

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

PCT/JP 2004/016104

04.11.2004

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日
Date of Application: 2 0 0 3 年 1 0 月 3 1 日

出 願 番 号
Application Number: 特 願 2 0 0 3 - 3 7 3 4 7 6
[ST. 10/C]: [J P 2 0 0 3 - 3 7 3 4 7 6]

REC'D 23 DEC 2004	
WIPO	PCT

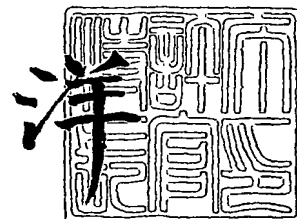
出 願 人
Applicant(s): 第一ファインケミカル株式会社

**PRIORITY
DOCUMENT**
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2 0 0 4 年 1 2 月 9 日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

小 川



【書類名】 特許願
【整理番号】 FYK-390
【提出日】 平成15年10月31日
【あて先】 特許庁長官殿
【国際特許分類】 C12N 15/09
C12N 1/21
C12R 1/01

【発明者】
【住所又は居所】 富山県高岡市長慶寺 5 3 0 番地 第一ファインケミカル株式会社
内
【氏名】 山村 栄虎

【発明者】
【住所又は居所】 富山県高岡市長慶寺 5 3 0 番地 第一ファインケミカル株式会社
内
【氏名】 藤本 昇

【特許出願人】
【識別番号】 390010205
【氏名又は名称】 第一ファインケミカル株式会社

【代理人】
【識別番号】 100088155
【弁理士】
【氏名又は名称】 長谷川 芳樹

【選任した代理人】
【識別番号】 100089978
【弁理士】
【氏名又は名称】 塩田 辰也

【選任した代理人】
【識別番号】 100092657
【弁理士】
【氏名又は名称】 寺崎 史朗

【手数料の表示】
【予納台帳番号】 014708
【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】
【物件名】 特許請求の範囲 1
【物件名】 明細書 1
【物件名】 図面 1
【物件名】 要約書 1

【書類名】 特許請求の範囲**【請求項 1】**

配列番号35、配列番号36および配列番号37に記載の塩基配列からなる群より選ばれる少なくとも1つの塩基配列を有するDNA断片。

【請求項 2】

配列番号35、配列番号36および配列番号37に記載の塩基配列からなる群より選ばれる少なくとも1つの塩基配列を有するDNA複製領域を含むことを特徴とするプラスミドまたはその一部であるDNA断片。

【請求項 3】

配列番号1、配列番号4、配列番号14、配列番号17および配列番号22に記載の塩基配列からなる群より選ばれる少なくとも1つの塩基配列を有するDNA断片。

【請求項 4】

配列番号1、配列番号4、配列番号14、配列番号17および配列番号22に記載の塩基配列からなる群より選ばれる少なくとも1つの塩基配列を有する、DNA複製関連タンパク質のコード領域を含むことを特徴とするプラスミドまたはその一部であるDNA断片。

【請求項 5】

配列番号1、配列番号4、配列番号14、配列番号17および配列番号22に記載の塩基配列からなる群より選ばれる少なくとも1つの塩基配列を有する、DNA複製関連タンパク質のコード領域を含み、且つ配列番号35、配列番号36および配列番号37に記載の塩基配列からなる群より選ばれる少なくとも1つの塩基配列を有するDNA複製領域を含むことを特徴とするプラスミドまたはその一部であるDNA断片。

【請求項 6】

配列番号73に記載の塩基配列を有するプラスミド。

【請求項 7】

Rhodococcus属菌由来であることを特徴とする請求項1～6のいずれか1項に記載のプラスミドまたはDNA断片。

【請求項 8】

配列番号70、配列番号71および配列番号72に記載の塩基配列からなる群より選ばれる少なくとも1つの塩基配列を有するDNA断片。

【請求項 9】

配列番号70、配列番号71および配列番号72に記載の塩基配列からなる群より選ばれる少なくとも1つの塩基配列を有するDNA複製領域を含むことを特徴とするプラスミドまたはその一部であるDNA断片。

【請求項 10】

配列番号40、配列番号42、配列番号44、配列番号45、配列番号47、配列番号53、配列番号55、配列番号56、配列番号61、配列番号62および配列番号69に記載の塩基配列からなる群より選ばれる少なくとも1つの塩基配列を有するDNA断片。

【請求項 11】

配列番号40、配列番号42、配列番号44、配列番号45、配列番号47、配列番号53、配列番号55、配列番号56、配列番号61、配列番号62および配列番号69に記載の塩基配列からなる群より選ばれる少なくとも1つの塩基配列を有する、DNA複製関連タンパク質のコード領域を含むことを特徴とするプラスミドまたはその一部であるDNA断片。

【請求項 12】

配列番号40、配列番号42、配列番号44、配列番号45、配列番号47、配列番号53、配列番号55、配列番号56、配列番号61、配列番号62および配列番号69に記載の塩基配列からなる群より選ばれる少なくとも1つの塩基配列を有する、DNA複製関連タンパク質のコード領域を含み、且つ配列番号70、配列番号71および配列番号72に記載の塩基配列からなる群より選ばれる少なくとも1つの塩基配列を有するDNA複製領域を含むことを特徴とするプラスミドまたはその一部であるDNA断片。

【請求項 13】

配列番号74に記載の塩基配列を有するプラスミド。

【請求項 14】

Rhodococcus属菌由来であることを特徴とする請求項8～13のいずれか1項に記載のプラスミドまたはDNA断片。

【請求項 15】

請求項1～14のいずれか1項に記載のプラスミドまたはその一部であるDNA断片、および大腸菌内で複製可能なDNA領域を含み、Rhodococcus属菌および大腸菌内で複製可能なシャトルベクター。

【書類名】明細書

【発明の名称】Rhodococcus属菌由来の新規なプラスミドおよびその断片、並びにそれらを利用するシャトルベクター

【技術分野】

【0001】

本発明は、Rhodococcus（ロドコッカス）属に属する微生物（以下、Rhodococcus属菌という）由来の新規なプラスミドおよびその一部であるDNA断片（以下、単にDNA断片ともいう）など、並びにそれらを利用するシャトルベクターに関する。

【背景技術】

【0002】

Rhodococcus属菌は、ニトリル類の代謝に関与する酵素を生産することやアミノケトンを不斉的に還元する酵素を産生することが知られている。特に、Rhodococcus erythropolis種菌は、きわめて高いアミノケトン不斉還元活性を有することが知られている。このような微生物は、 α -アミノケトンに作用して、光学活性 β -アミノアルコールを高収率かつ高選択的に生産する（例えば、特許文献1）。したがって、Rhodococcus属菌において、有用な酵素等の大量生産を目的とする宿主-ベクター系の開発が以前から期待されてきた。しかしながら、Rhodococcus属菌を宿主とするに適したベクターの開発は遅れているのが現状である。Rhodococcus属菌においてプラスミドが見出された微生物は、Rhodococcus sp. H13-A株（非特許文献1）、Rhodococcus rhodochrous ATCC 4276株（特許文献2）、Rhodococcus rhodochrous ATCC 4001株（特許文献3）およびRhodococcus erythropolis IFO 12320（特許文献4）など数株にしかすぎない。

【特許文献1】国際公開WO 01/73100号パンフレット

【特許文献2】特開平4-148685号公報

【特許文献3】特開平4-330287号公報

【特許文献4】特開平9-28379号公報

【非特許文献1】J. Bacteriol., 170, 638, 1988

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0003】

上記のようにRhodococcus属菌から工業的に利用できる菌株を育種、改良（変異株）するための新しいベクターの開発が望まれている。特に、組換えDNA微生物およびその産物である食品や添加物の安全性の面からセルフクローニング系によることが望ましいとされている。

【0004】

本発明は、このような宿主-ベクター系におけるベクターとして利用できる新規なプラスミドを提供することを目的とする。

【0005】

アミノケトン不斉還元活性を有するRhodococcus erythropolis種菌において、工業的に利用できる組換え微生物の創出が望まれている。

【0006】

特に、このような組換え微生物の創出に利用できる新規なプラスミドまたはその一部であるDNA断片を提供することを本発明の第一の目的とする。

【0007】

前記プラスミドが得られれば、他の微生物でも複製可能なシャトルベクターを構築することも容易となる。

【0008】

本発明は、このようなシャトルベクター構築に必要となるDNA複製に関する塩基配列情報（複製領域等）を提供することを第二の目的とする。

【0009】

本発明は、Rhodococcus属菌および大腸菌のいずれにおいても複製可能なシャトルベク

ターを提供することを第三の目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0010】

本発明者らは、Rhodococcus属菌株よりベクター作製のためのプラスミドを鋭意スクリーニングした結果、宿主-ベクター系におけるベクターとして利用可能な幾つかの新規なプラスミドを見出した。

【0011】

また、本発明者らは、前記プラスミドに、薬剤耐性遺伝子、大腸菌内で複製可能な遺伝子領域などを導入することによって、シャトルベクターを作製できることを見出した。このように、上記課題を達成する塩基配列情報、プラスミドおよびシャトルベクターを得て、本発明を完成するに至った。

【0012】

すなわち、本発明によれば、以下の(1)～(15)に記載のDNA断片、DNA、プラスミドおよびシャトルベクターが提供される。

- (1) 配列番号35、配列番号36および配列番号37に記載の塩基配列からなる群より選ばれる少なくとも1つの塩基配列を有するDNA断片。
- (2) 配列番号35、配列番号36および配列番号37に記載の塩基配列からなる群より選ばれる少なくとも1つの塩基配列を有するDNA複製領域を含むことを特徴とするプラスミドまたはその一部であるDNA断片。
- (3) 配列番号1、配列番号4、配列番号14、配列番号17および配列番号22に記載の塩基配列からなる群より選ばれる少なくとも1つの塩基配列を有するDNA断片。
- (4) 配列番号1、配列番号4、配列番号14、配列番号17および配列番号22に記載の塩基配列からなる群より選ばれる少なくとも1つの塩基配列を有する、DNA複製関連タンパク質のコード領域を含むことを特徴とするプラスミドまたはその一部であるDNA断片。
- (5) 配列番号1、配列番号4、配列番号14、配列番号17および配列番号22に記載の塩基配列からなる群より選ばれる少なくとも1つの塩基配列を有する、DNA複製関連タンパク質のコード領域を含み、且つ配列番号35、配列番号36および配列番号37に記載の塩基配列からなる群より選ばれる少なくとも1つの塩基配列を有するDNA複製領域を含むことを特徴とするプラスミドまたはその一部であるDNA断片。
- (6) 配列番号73に記載の塩基配列を有するプラスミド。
- (7) Rhodococcus属菌由来であることを特徴とする上記(1)～(6)のいずれか1つに記載のプラスミドまたはDNA断片。
- (8) 配列番号70、配列番号71および配列番号72に記載の塩基配列からなる群より選ばれる少なくとも1つの塩基配列を有するDNA断片。
- (9) 配列番号70、配列番号71および配列番号72に記載の塩基配列からなる群より選ばれる少なくとも1つの塩基配列を有するDNA複製領域を含むことを特徴とするプラスミドまたはその一部であるDNA断片。
- (10) 配列番号40、配列番号42、配列番号44、配列番号45、配列番号47、配列番号53、配列番号55、配列番号56、配列番号61、配列番号62および配列番号69に記載の塩基配列からなる群より選ばれる少なくとも1つの塩基配列を有するDNA断片。
- (11) 配列番号40、配列番号42、配列番号44、配列番号45、配列番号47、配列番号53、配列番号55、配列番号56、配列番号61、配列番号62および配列番号69に記載の塩基配列からなる群より選ばれる少なくとも1つの塩基配列を有する、DNA複製関連タンパク質のコード領域を含むことを特徴とするプラスミドまたはその一部であるDNA断片。
- (12) 配列番号40、配列番号42、配列番号44、配列番号45、配列番号47、配列番号53、配列番号55、配列番号56、配列番号61、配列番号62および配列番号69に記載の塩基配列からなる群より選ばれる少なくとも1つの塩基配列を有する、DNA複製関連タンパク質のコード領域を含み、且つ配列番号70、配列番号71および配列番号72に記載の塩基配列からなる群より選ばれる少なくとも1つの塩基配列を有するDNA複製領域を含むことを特徴とするプラスミドまたはその一部であるDNA断片。

- (13) 配列番号74に記載の塩基配列を有するプラスミド。
 (14) *Rhodococcus*属菌由来であることを特徴とする上記(8)～(13)いずれか1つに記載のプラスミドまたはDNA断片。
 (15) 上記(1)～(14)のいずれか1つに記載のプラスミドまたはその一部であるDNA断片、および大腸菌内で複製可能なDNA領域を含み、*Rhodococcus*属菌および大腸菌内で複製可能なシャトルベクター。

【発明の効果】

【0013】

本発明のプラスミドは、従来知られていない新規なプラスミドであり、工業的に有用な *Rhodococcus*属に属する宿主-ベクター系におけるベクターとして価値がある。特に、アミノケトンの不斉還元を工業的に行なえる組換え微生物の創出に有用である。このような微生物が貢献するアミノケトンの不斉還元としては、dl-2-メチルアミノ-1-フェニル-1-プロパノンからd-(1S,2S)-プソイドエフェドリンを製造する反応が挙げられる。

【0014】

さらに、本発明のシャトルベクターは、*Rhodococcus*属菌または大腸菌 (*Escherichia*属菌)において、工業的に利用し得る組換え微生物の創出に有用である。

【0015】

本発明のプラスミドから得られるDNA複製に関する塩基配列情報は、それに基づいて前記シャトルベクターの構築を可能とし、具体的にはベクターの構成要素であるDNA断片等を提供する。

【発明を実施するための最良の形態】

【0016】

以下、本発明を好適な実施の形態に従って説明する。

【0017】

本発明の第1のプラスミドは、*Rhodococcus*属菌から単離されるプラスミドまたはその誘導体である。具体的には、例えば、*Rhodococcus erythropolis* IAM 1400, IAM 1503, JCM2893およびJCM2894株等の菌株から単離することができ、その大きさが約5.4kbpであり、且つ下記に示す制限酵素に対する分解特性を有する環状プラスミドである。以下、それぞれの菌株から単離されるプラスミドをpRET1100、pRET1300、pRET1500およびpRET1700と称する。なお、供試菌株から本発明のプラスミドを調製するには、公知の方法（例えば、ボイル法、アルカリ溶解法、塩化セシウム密度勾配超遠心法：ラボマニュアル遺伝子工学、第3版、第10章、55-59頁、丸善株式会社）を採用することができる。

【0018】

【表1】

制限酵素	切断部位数	生成断片のサイズ(kbp)
BamHI	2	0.4, 5.0
EcoRI	2	0.3, 5.1
KpnI	1	5.4
PvuII	1	5.4
SacI	1	5.4
SmaI	1	5.4

【0019】

プラスミドpRET1100の制限酵素地図を図1に示す。このプラスミドについて、公知の方法（例えば、蛍光式自動シーケンサー）によりシーケンスしたところ、その全塩基配列は、配列表の配列番号73に示す5444bpであることが分かった。

【0020】

また、本発明の第2のプラスミドも、*Rhodococcus*属菌から単離されるプラスミドまたはその誘導体である。具体的には、例えば、*Rhodococcus rhodnii* JCM3203株から単離することができ、その大きさが約5.8bpであり、且つ下記に示す制限酵素に対する分解特性を有する環状プラスミドである。以下このプラスミドをpRET1000と称する。

【0021】

【表2】

制限酵素	切断部位数	生成断片のサイズ(kbp)
BamHI	2	2.0, 3.8
PvuII	4	0.1, 1.4, 2.0, 2.3
SacI	3	0.9, 1.0, 3.9
SmaI	4	0.1, 1.2, 1.6, 2.9

【0022】

プラスミドpRET1000の制限酵素地図を図2に示す。このプラスミドについても、公知の方法によりシーケンスしたところ、配列表の配列番号74に示す5813bpの塩基配列を有することが分かった。

【0023】

以上のように本発明のプラスミド類（天然型もしくは野生型）は、表1または表2に示す制限酵素切断パターンによっても特定され得る環状プラスミドである。したがって、本発明は次の2種類の環状プラスミドを包含する。

- (1) *Rhodococcus*属菌由来の環状プラスミドであって、その大きさが約5.4kbpであり、制限酵素切断部位数がBamH I:2、EcoR I:2、Kpn I:1、Pvu II:1、Sac I:1およびSma I:1であることを特徴とする環状プラスミド。
- (2) *Rhodococcus*属菌由来の環状プラスミドであって、その大きさが約5.8kbpであり、制限酵素切断部位数がBamH I:2、Pvu II:4、Sac I:3およびSma I:4であることを特徴とする環状プラスミド。

【0024】

プラスミドpRET1100およびpRET1000の塩基配列（すなわち、配列番号73および配列番号74）を解析した結果、DNA複製やその他の機能を有するタンパク質をコードしている一群の塩基配列（オープンリーディングフレーム、以下orfという）が存在することが推測される。

【0025】

当該技術分野において、「DNA複製」とは、DNA自身が鋳型となって、すでにある2本鎖DNA（親DNA）と全く同じ2個の2本鎖DNAが形成されることを指す。その複製機構は、複製開始点（複製起点）からの開始、DNA鎖の伸長、終結の3段階からなる。複製の際にはDNA2本鎖の一部がほどけ、それぞれの1本鎖に相補的な新しいDNA鎖が合成される。2本鎖をほどくのは、DNAヘリカーゼとらせん不安定化蛋白（一本鎖DNA結合蛋白ともいう）であり、ほどかれた部分は複製フォークと呼ばれる。複製フォークに向かって3' → 5' 方向の鋳型DNAをリーディング鎖、その逆で5' → 3' 方向をラギング鎖と呼ぶ。DNAポリメラーゼは、5' → 3' に向かってDNA鎖を伸ばしてゆく。そのためリーディング鎖を鋳型にする場合、複製フォークの方向にDNAが合成される。しかし、反対側のラギング鎖を鋳型にす

ると、複製フォークと逆方向にDNA鎖を伸ばさねばならない。そのためラギング鎖の複製は、岡崎フラグメントと呼ぶ200塩基程度の断片ごとに行われる。約200塩基ごとにRNAプライマーがDNAを鋳型にして、10塩基のRNAを5' → 3' の方向に合成する。そのRNAをプライマーにして、ラギング鎖を鋳型にDNAポリメラーゼが5' → 3' 方向にDNA鎖を合成する。複製された200塩基程度のDNA断片は、その後RNAが除去され1本鎖のDNAに結合される。このような複製機構の中で、DNAヘリカーゼ、らせん不安定化蛋白などの種々のタンパク質が協同して複製装置を形成している。関与している他のタンパク質として、DNAトポイソメラーゼ（DNA複製の際のよじれを防ぐ）、複製開始蛋白や複製終了蛋白などが挙げられる。DNA複製機構については、例えば、「細胞の分子生物学、第3版、中村桂子ら訳、251-262頁、教育社、1996年」に詳しく解説されている。

【0026】

そこで、さらにプラスミドpRET1100およびpRET1000の塩基配列を解析した結果、前記DNA複製に関与するorfの近辺に、ATリッチな相同性または相似性のある繰返しを持った配列やDNAの二次構造をもつと思われる配列、すなわちDNA複製領域（DNAの複製に関与するタンパク質が認識する塩基配列領域、またはDNAの複製開始点が存在する領域）と推測される塩基配列が見出された。

【0027】

以上、DNA複製には、DNA複製領域およびDNA複製に関与するタンパク質（以下、DNA複製関連タンパク質という）をコードする領域が必須である。本発明に従えば、pRET1100およびpRET1000の両プラスミドについて、これらの領域の塩基配列に関する情報が取得できる。

【0028】

まず、プラスミドpRET1100において、DNA複製領域としては、配列番号35～37に記載の塩基配列が同定される。また、DNA複製関連タンパク質のコード領域としては、配列番号1～3に記載の塩基配列（orf1）、配列番号4に記載の塩基配列（orf2）、配列番号5～16に記載の塩基配列（orf3）、配列番号17～21に記載の塩基配列（orf4）、配列番号22～26に記載の塩基配列（orf5）、配列番号27または28に記載の塩基配列（orf6）、塩基配列29または30に記載の塩基配列（orf7）、配列番号31または32に記載の塩基配列（orf8）、配列番号33または34に記載の塩基配列（orf9）が同定される。pRET1100からDNA複製可能なプラスミドを作製するためには、この組換えプラスミドは、前記DNA複製領域を少なくとも1つと前記コード領域（orf）を少なくとも1つ備える必要がある。したがって、本発明のプラスミド（組換え型）は、このようなDNA複製領域を少なくとも1つとコード領域を少なくとも1つ含むことを特徴とする。プラスミド作製に際しては、前述の塩基配列情報に基づいて、DNA断片を適宜選択して、構築することができる。また、本発明は、該プラスミドの誘導体もしくは機能的な（DNA複製）断片をも包含する。

【0029】

次に、プラスミドpRET1000において、DNA複製領域としては、配列番号70～72に記載の塩基配列が同定される。また、DNA複製関連タンパク質のコード領域としては、配列番号38～41に記載の塩基配列（orf10）、配列番号42または43に記載の塩基配列（orf11）、配列番号44に記載の塩基配列（orf12）、配列番号45または46に記載の塩基配列（orf13）、配列番号47～50に記載の塩基配列（orf14）、配列番号51または52に記載の塩基配列（orf15）、配列番号53または54に記載の塩基配列（orf16）、配列番号55に記載の塩基配列（orf17）、配列番号56～60に記載の塩基配列（orf18）、配列番号61に記載の塩基配列（orf19）、配列番号62に記載の塩基配列（orf20）、配列番号63～69に記載の塩基配列（orf21）が同定される。pRET1000からDNA複製可能なプラスミドを作製するためには、この組換えプラスミドは、前記DNA複製領域を少なくとも1つと前記コード領域（orf）を少なくとも1つ備える必要がある。したがって、本発明のプラスミド（組換え型）は、このようなDNA複製領域を少なくとも1つとコード領域を少なくとも1つ含むことを特徴とする。プラスミド作製に際しては、前述の塩基配列情報に基づいて、DNA断片を適宜選択して、構築することができる。また、本発明は、該プラスミドの誘導体もしくは機能的な（DNA複製）断

片をも包含する。

【0030】

本発明のシャトルベクターは、上記のプラスミドまたはその一部であるDNA断片(A)および大腸菌内で複製可能なDNA領域(B)を含む。また、このシャトルベクターは、場合により薬剤耐性遺伝子を含むDNA領域を含んでもよく、これは好ましい。当該技術分野において、一般的に「シャトルベクター」とは、二種の細胞のDNA複製機構を含み、望ましくはさらに選択マーカーとしての薬剤耐性遺伝子等を含む、その二種の細胞中で自律複製することができるベクターをいう。プラスミドまたはその一部であるDNA断片(A)は、Rhodococcus属菌中で複製可能なDNA領域である。大腸菌内で複製可能なDNA領域(B)は、大腸菌内で複製増殖可能なプラスミドであれば、プラスミド全体であってもよく、またはその一部であってもよい。前記大腸菌内で複製可能なDNA領域としては、例えば、pUC18、pHSG299、pHSG398等のプラスミドを用いることが可能である。

【0031】

本発明のシャトルベクターが薬剤耐性遺伝子を含む場合、アンピシリン耐性遺伝子、カナマイシン耐性遺伝子、クロラムフェニコール耐性遺伝子などが好適に用いられるが、宿主となるRhodococcus属菌および大腸菌内で発現し、宿主細胞に薬剤耐性を与えることができ、両菌属間で、薬剤耐性能によりプラスミドの存在が確認できるものであれば、薬剤の種類に限定はない。また、そのような薬剤耐性遺伝子を複数個、使用してもよい。

【0032】

シャトルベクターには、複数のクローニングサイト(マルチクローニングサイト)が含まれることが望ましく、このクローニングサイトと前記薬剤耐性遺伝子は、例えば、大腸菌プラスミドから誘導されうる。すなわち、上記で列挙した公知の大腸菌プラスミドを適当な制限酵素によって、切断して、クローニングサイトと薬剤耐性遺伝子を含むDNA領域を作製し、他方のDNA断片(Rhodococcus属菌中で複製可能なDNA領域)とライゲーションする。

【0033】

実例として、シャトルベクターの構築の概略を図3~5に示す。

【0034】

本発明のシャトルベクターは、Rhodococcus属菌または大腸菌を宿主とすることができ、それらのいずれでも複製可能であり、工業的に利用できる。本発明のシャトルベクターによって形質転換されたRhodococcus属菌または大腸菌、さらにその他の微生物の形質転換体は、このように有用であり、これら形質転換体も本発明に包含される。

【実施例】

【0035】

以下、実施例により本発明をさらに具体的に説明するが、下記の実施例は本発明の技術範囲を限定するものではない。

【0036】

(実施例1) プラスミドの分離精製

(1) 方法

Rhodococcus属菌を5mLのGPY培地(1%グルコース、0.5%バクトペプトン、0.3%イーストエクストラクト)に植菌し、25℃で振盪培養した。対数増殖期に100mg/mLアンピシリン溶液を250 μ L添加し、25℃で2時間振盪培養した。遠心分離(12krpm、5分間)で集菌し、上清を取り除いた後1mLの50mM Tris(pH 7.5)で懸濁し、再度、遠心分離(12krpm、5分間)で集菌し、上清を取り除いた。TE溶液(10mM Tris(pH 7.5)、1mM EDTA)に溶解した250 μ Lの10 mg/mlリゾチーム溶液で懸濁し、37℃で30分間放置した。その後、100 μ Lの3M NaClと25 μ Lの10% SDSを加え、-20℃で一晩放置した。遠心分離(12krpm、5分間)した上清に50 μ g/mL Proteinase Kおよび50 μ g/mL RNase Aをそれぞれ0.5 μ L加え、37℃で15分間放置した。その後、等量のフェノール/クロロホルム/イソアミルアルコール溶液を添加し、遠心分離(12krpm、5分間)を行った。上清に2.5倍量のエタノールを加え、遠心分離(12krpm、5分間)し、50 μ Lの滅菌水に沈殿を溶解した。プラスミドの確認は、0.

8%アガロースゲルで電気泳動し、臭化エチジウムで染色した後UV照射で行った。

【0037】

(2) 供試菌株および結果

本実施例では、Rhodococcus属およびその類縁菌であるMycobacterium属の各種入手可能な菌株から上記(1)の方法にしたがって、プラスミドの有無についてのスクリーニングを行った。

【0038】

スクリーニングした菌株のうちプラスミドの保持を確認できたものを表3に示す。すなわち、Rhodococcus erythropolis (IAM 1400、IAM 1503、JCM 2893、JCM 2894およびJCM 2895) さらに、Rhodococcus. rhodnii (JCM 3203) において、それぞれ約5.4 kbpおよび約5.8kbpのプラスミドを確認できた。これらのプラスミドは、表3に列挙された名称のよう、pRET1100, pRET1200, pRET1300, pRET1400, pRET1500, pRET1600, pRET1700, pRET1800, pRET0500, pRET1000と命名された(表3)。

【0039】

【表3】

菌株	No.	size (kbp)	名称
<i>Rhodococcus erythropolis</i>	IAM 1400	5.4	pRET1100
		5.4	pRET1200
"	IAM 1503	5.4	pRET1300
		5.4	pRET1400
"	JCM 2893	5.4	pRET1500
		5.4	pRET1600
"	JCM 2894	5.4	pRET1700
		5.4	pRET1800
"	JCM 2895	5.4	pRET0500
		5.8	pRET1000
<i>Rhodococcus rhodnii</i>	JCM 3203	5.8	pRET1000

【0040】

(実施例2) 制限酵素サイトの特定

表3に示したプラスミドを分類するために各種制限酵素を用いて、制限酵素サイトを調べた。各プラスミドを実施例1に記載の方法で分離した後、EcoR I、Hind III、Pvu II、Sca I、Sph I、Sma I、Sac I、BamH I、そしてKpn Iで消化し、0.8%アガロースゲルで電気泳動することによりDNA断片を確認した。サイズマーカーはλ/EcoR I+Hind III double digestを使用した。サイズマーカーを基に、制限酵素で切断されるサイトの数とそのフラグメントの大きさを決定した。結果を表4にまとめた。

【0041】

【表4】

	<i>R.erythropolis</i>								<i>R.rhodnii</i>	
	IAM 1400		IAM 1503		JCM 2893		JCM 2894		JCM 2895	JCM 3203
	pRET1100	pRET1200	pRET1300	pRET1400	pRET1500	pRET1600	pRET1700	pRET1800	pRET0500	pRET1000
BamHI	2 (0.4, 5.0)	1(5.4)	pRET1100と同じ	pRET1200と同じ	pRET1100と同じ	pRET1200と同じ	pRET1100と同じ	pRET1200と同じ	pRET1200と同じ	2 (2.0, 3.8)
EcoRI	2 (0.3, 5.1)	1(5.4)								0
HindIII	0	0								0
KpnI	1(5.4)	0								0
PvuII	1(5.4)	2 (0.9, 4.5)								4 (0.1, 1.4, 2.0, 2.3)
SacI	1(5.4)	1 (5.4)								3 (0.9, 1.0, 3.9)
ScaI	0	0								0
SphI	0	0								0
SmaI	1(5.4)	2 (0.4, 0.5)								4 (0.1, 1.2, 1.6, 2.9)

()内はサイズ kbp

【0042】

上記解析の結果、表3のプラスミドは、pRET1100と同様の制限酵素サイトを保持するプラスミド類、そしてpRET1200と同様の制限酵素サイトを保持するプラスミド類、

の 3 種類に分類される。

【 0 0 4 3 】

(実施例 3) プラスミドのシーケンスおよび相同性検索

実施例 2 の結果から、プラスミドが 3 種類、すなわち pRET1000, pRET1100, pRET1200 に分類されたので、それぞれのプラスミドのシーケンスを試みた。

【 0 0 4 4 】

まず、塩基配列を決定するために、これらプラスミド類のクローニングを行った。Rhodococcus erythropolis (IAM 1400) については、プラスミド (pRET1100, pRET1200) を分離したあと Sma I と Sac I で消化した。0.8% アガロースゲルで電気泳動し、DNA 断片を確認したところ、約 0.5 kbp、約 1.7 kbp、約 3.7 kbp、約 4.9 kbp の DNA 断片を確認できた。これらの DNA 断片を GFXTM PCR DNA and Gel Band Purification Kit を用いてアガロースゲルから回収し、インサート DNA とした。一方、ベクター DNA としては、pBluescript II KS(-) を Sma I または Sma I と Sac I で消化したものを用いた。インサート DNA とベクター DNA を Ligation high を用いてライゲーションし、大腸菌 JM109 に形質転換した。得られた形質転換体を GFX Micro Plasmid Prep Kit を用いてスクリーニングし、各々のクローンを得た。

【 0 0 4 5 】

一方、Rhodococcus rhodnii (JCM 3203) についてはプラスミド (pRET1000) を分離した後、BamH I で消化した。0.8% アガロースゲルで電気泳動したところ、約 2.0 kbp、約 3.8 kbp の DNA 断片を確認できた。これらの DNA 断片を上記の Kit を用いてゲルから回収し、インサート DNA とした。ベクター DNA は pBluescript II KS(-) を BamH I で消化したものを用いた。

【 0 0 4 6 】

プラスミドのインサートの塩基配列決定は、プライマーウォーキング法で行った。機器は ABI PRISMTM 310NT Genetic Analyzer、酵素は BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit を使用した。

【 0 0 4 7 】

まず、P7 (M13 forward、東洋紡績) プライマーおよび P8 (M13 reverse、東洋紡績) プライマーを用いてインサートの塩基配列の一部を解読した。次に解読した配列内にプライマーを設計 (DNASIS Pro を使用) し、設計したプライマー (合成オリゴ DNA) を用いてさらに塩基配列を解読した。この手順を、インサートの塩基配列が全て解読できるまで繰り返した。インサートの塩基配列解読が終了したあと、これらのインサートがどのように連結しているかを解析するために、各々のインサートの末端にベクター方向に反応が行われるようプライマーを設計し、Rhodococcus erythropolis (IAM 1400) から分離したプラスミドを鋳型として PCR を行った (KOD Plus を使用)。その PCR 産物を GFXTM PCR DNA and Gel Band Purification Kit を用いて精製し、PCR に使用したプライマーと同じプライマーを使用してシーケンスを行いインサートの整列を解析した。

【 0 0 4 8 】

シーケンスの結果、pRET1100 は 5444 bp から成り、その G+C 含量は 59% であることが分かった。決定された全塩基配列を配列表の配列番号 73 に示す。pRET1200 は、5421 bp から成り、G+C 含量は 62% であった。pRET1000 は、5813 bp からなり、G+C 含量は 67% であった。その決定されたその塩基配列を配列表の配列番号 74 に示す。

【 0 0 4 9 】

これらの決定された塩基配列を DNASIS Pro を用いて、相同性検索を行ったところ、pRET1000 および pRET1100 は新規のプラスミドであることが判明した。一方、pRET1200 は、pN30 (Gene bank accession no. AF312210) と約 99.6% (pRET1200 を基に計算) 相同性があった。

【 0 0 5 0 】

さらに、pRET1000 および pRET1100 について、決定された塩基配列を基に DNASIS Pro (日立ソフト社製) を使用して、公知プラスミドとの比較を行った。その結果、両方のプラスミドについて、全ての制限酵素サイトが一致するプラスミドは検出されなかった。

【0051】

(実施例4) 塩基配列の解析

pRET1100およびpRET1000の塩基配列を解析した結果を以下に示す。

【0052】

pRET1100には以下のorfが見出された：配列表の配列番号73に記載の塩基配列上、202番目、238番目、もしくは337番目からそれぞれ480番目までのorf1（配列番号1、配列番号2または配列番号3）；配列番号73に記載の塩基配列上、477番目から758番目までのorf2（配列番号4）；配列番号73に記載の塩基配列上、862番目、1294番目、1450番目、1462番目、1486番目、1489番目、1513番目、1630番目、1645番目、1687番目、2224番目もしくは2227番目からそれぞれ2409番目までのorf3（配列番号5、配列番号6、配列番号7、配列番号8、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15または配列番号16）；配列番号73に記載の塩基配列上、1875番目、1734番目、1701番目、1674番目もしくは1581番目からそれぞれ1444番目までの相補鎖上のorf4（配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20または配列番号21）；配列番号73に記載の塩基配列上、2828番目、2792番目、2747番目、2594番目もしくは2540番目からそれぞれ2406番目までの相補鎖上のorf5（配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25または配列番号26）；配列番号73に記載の塩基配列上、2971番目もしくは3049番目からそれぞれ3306番目までのorf6（配列番号27または配列番号28）；配列番号73に記載の塩基配列上、3577番目もしくは3571番目からそれぞれ3053番目までの相補鎖上のorf7（配列番号29または配列番号30）；配列番号73に記載の塩基配列上、3339番目もしくは3648番目からそれぞれ3902番目までのorf8（配列番号31または配列番号32）；配列番号73に記載の塩基配列上、4366番目もしくは4477番目からそれぞれ5034番目までのorf9（配列番号33または配列番号34）。

【0053】

pRET1000には以下のorfが見出された：配列表の配列番号74に記載の塩基配列上、3350番目、3251番目、2945番目もしくは2849番目からそれぞれ2412番目までの相補鎖上のorf10（配列番号38、配列番号39、配列番号40または配列番号41）；配列番号74に記載の塩基配列上、2365番目もしくは2332番目からそれぞれ2159番目までの相補鎖上のorf11（配列番号42または配列番号43）；配列番号74に記載の塩基配列上、3197番目から3526番目までのorf12（配列番号44）；配列番号74に記載の塩基配列上、4035番目もしくは3996番目からそれぞれ3679番目までの相補鎖上のorf13（配列番号45または配列番号46）；配列番号74に記載の塩基配列上、4381番目、4621番目、4654番目もしくは4666番目からそれぞれ4830番目までのorf14（配列番号47、配列番号48、配列番号49または配列番号50）；配列番号74に記載の塩基配列上、5161番目もしくは5062番目からそれぞれ4709番目まで相補鎖上のorf15（配列番号51または配列番号52）；配列番号74に記載の塩基配列上、2331番目もしくは2334番目からそれぞれ2618番目までのorf16（配列番号53または配列番号54）；配列番号74に記載の塩基配列上、2907番目から3242番目までのorf17（配列番号55）；配列番号74に記載の塩基配列上、1650番目、1689番目、1713番目、1827番目もしくは1875番目からそれぞれ2162番目までのorf18（配列番号56、配列番号57、配列番号58、配列番号59または配列番号60）；配列番号74に記載の塩基配列上、1906番目から2169番目までのorf19（配列番号61）；配列番号74に記載の塩基配列上、810番目から553番目までの相補鎖上のorf20（配列番号62）；配列番号74に記載の塩基配列上、117番目、147番目、306番目、456番目、5144番目、5276番目もしくは5534番目からそれぞれ656番目までのorf21（配列番号63、配列番号64、配列番号65、配列番号66、配列番号67、配列番号68または配列番号69）。

【0054】

pRET1100におけるDNA複製領域は、配列番号35に記載の塩基配列（2410番目から3200番目）、配列番号36に記載の塩基配列（1000番目から1500番目）または配列番号37に記載の塩基配列（5000番目から500番目）で示される領域である。pRET1000におけるDNA複製領域は、配列番号70に記載の塩基配列（3355番目から3507番目）、配列番号71に記載

載の塩基配列(4290番目から4350番目)または配列番号72に記載の塩基配列(3570番目から3894番目)で示される領域である。

【0055】

(実施例5) シャトルベクターの構築

Rhodococcus erythropolisと大腸菌間のシャトルベクターを構築するために、Rhodococcus erythropolisのプラスミドpRET1100とE. coliのプラスミドpUC18、pHSG299、およびpHSG398を使用した。

【0056】

まず、Rhodococcus erythropolisのプラスミドからDNAフラグメントを調製した。すなわち、Rhodococcus erythropolis (IAM 1400) からプラスミドpRET1100およびpRET1200を取得した後、pRET1100の塩基配列よりAlw44 I の制限酵素部位が存在することが推測されたので、Alw44 Iで消化し、BluntingすることによりpRET1100のDNAフラグメントとした。

【0057】

E. coliのプラスミドからDNAフラグメントを調製した。すなわち、pUC18はSma Iで、pHSG299およびpHSG398はHinc IIで消化することによりE. coliのプラスミドのDNAフラグメントとした。

【0058】

上記のように調製したRhodococcus erythropolisおよびE. coliのプラスミドからのDNAフラグメントをライゲーションした後、E. coli DH5 α に形質転換して、GFXTM Micro Plasmid Prep Kitを用いてスクリーニングを行い、シャトルベクターを得た。各シャトルベクターの作製方法を図3～5に示す。

【0059】

pRET1100とpUC18、pHSG299、またはpHSG398で構成されるシャトルベクターは、pRET1101、pRET1102、pRET1103とそれぞれ命名された。なお、pRET1101はアンピシリン耐性、pRET1102はカナマイシン耐性、pRET1103は、クロラムフェニコール耐性を示すシャトルベクターである。

【産業上の利用可能性】

【0060】

以上説明したように、本発明のプラスミドおよびシャトルベクターは、Rhodococcus属菌(特に、Rhodococcus erythropolisまたはRhodococcus rhodnii)由来のものであり、これらを利用して同菌を組換えにより改変し、より効率的にアミノケトン不斉還元酵素を産生する菌株を作製することができる。また、アミノケトン不斉還元酵素を含む有用酵素を形質転換体に大量生産させることもできるようになる。

【図面の簡単な説明】

【0061】

【図1】 プラスミドpRET1100の制限酵素切断地図である。

【図2】 プラスミドpRET1000の制限酵素切断地図である。

【図3】 シャトルベクターpRET1101の構築の概要を示す作製図である。

【図4】 シャトルベクターpRET1102の構築の概要を示す作製図である。

【図5】 シャトルベクターpRET1103の構築の概要を示す作製図である。

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Daiichi Fine Chemical Co., Ltd.

<120> Novel cyclic plasmids derived from Rhodococcus strains, fragments thereof, and shuttle vectors utilizing them

<130> JP03-2022-FY

<160> 74

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 279

<212> DNA

<213> Rhodococcus erythropolis

<220>

<221> misc_feature

<223> 202bp to 480bp pRET1100

<400> 1
atgactctga ggggtggacga accggagtcg gtgagaatgc ttcattccgag cgcttccccg 60
gaagactgtg ccctgggtcga gaccttcaag cctggtacct gccttttcga gaagccagga 120
gaaggccggc agattatgcg atgcgacttt gtcggcgagt acgggagata tgcgcgagcc 180
atcgagtctt cggatctgcg ttttctcgcc accctccagc aagaccaggc ccaacgcgaa 240
ttcttcgctg aggagttcgg tgtggtggat ccgtcatga 279

<210> 2

<211> 243

<212> DNA

<213> Rhodococcus erythropolis

<220>

<221> misc_feature

<223> 238bp to 480bp pRET1100

<400> 2
atgcttcacg cgagcgcttc cccggaagac tgtgccctgg tcgagacctt caagcctggt 60
acctgccttt tcgagaagcc aggagaaggc cggcagatta tgcgatgcga ctttgtcggc 120

gagtacggga gatatgcgcg agccatcgag tcttcggatc tgcgttttct cgccaccctc 180
cagcaagacc aggcccaacg cgaattcttc gctgaggagt tcggtgtggt ggatccgtca 240
tga 243

<210> 3
<211> 144
<212> DNA
<213> Rhodococcus erythropolis

<220>
<221> misc_feature
<223> 337bp to 480bp pRET1100

<400> 3
atgcgatgcg actttgtcgg cgagtacggg agatatgcgc gagccatcga gtcttcggat 60
ctgcgttttc tcgccaccct ccagcaagac caggcccaac gcgaattctt cgctgaggag 120
ttcgggtgtgg tggatccgtc atga 144

<210> 4
<211> 282
<212> DNA
<213> Rhodococcus erythropolis

<220>
<221> misc_feature
<223> 477bp to 758bp pRET1100

<400> 4
atgactggac cacaggagag aaagcgcaag gcggcgaagc cgtcgcggga gcctcagttg 60
aactgctgtg aagcggacgt gccgaaacga gcaaaacagc ccccggttcc ctctacgttc 120
gacctgctca cgggtgaagga gactgcgggg ctgctgagag tcagtcaggc aactctttac 180
cggctgcttc ggagtgggga aggaccaca tacacacgga tcggtggaca gatacgctt 240
caccgcgagt cgctgcgtcg gttcatcgaa ccgcgtggat aa 282

<210> 5
<211> 1548

<212> DNA
<213> Rhodococcus erythropolis

<220>
<221> misc_feature
<223> 862bp to 2409bp pRET1100

<400> 5
atgcacttcc acgataacgc agaggtcggg caagaggga gaactgccgt tctctcgccg 60
ttgcgcggcg tagccgcaa gcgggacgtg tctgacgatg cagcgaagcg gagtcggcag 120
gcgcggcacg cgcctgggct tgttacatct gccacaactg tccgtgaatc tctgccagct 180
cctgaaaccg ctgggtcaggg ccttgcggaa tccgtgaccg ctgatgattt ttggtctcat 240
tcgttcccc gcgctgacga tgtacgcggc gcagctgctt ccttcagtc ggtggctaac 300
tgggatgggc gtgagggtcc gaggccgctg ttcgttgctg cgcctggcgt tgtccgcttg 360
gaggtttgtg atctcgcacg ccgcgaacga acggctgaac gtgcgtatct ggctgctcgg 420
gctcgggttg atatggcggc tgccaggcat aactcgccgt acgacttcca cgtggacgat 480
gaagagttgg cggaactggc ttctctgcaa ggcctcgagg acgacgacat tgggggctgg 540
tctgcggaga gggaaatagt gggctgggtc gctcgttctc gggtcacggat gatcttgcca 600
atggcagaac tcgactgggc tcccatgatg gatttgccgg gcattcctgc gatggtgacc 660
ctcacctatc cgggggactg gcttacggtt gccccaccg gcgctgaggt caaaaaacat 720
ctccagacgt tcttcaaacg gttccaacgg gcctggggca ttgcctggat ggggtgcgtgg 780
aaaatggagt tccaaagccg aggcgtccg cattttcacc tgtacatggt ccctcctcat 840
gggaaggcag gagactcgcg gaagctgcgg catgatgctg agctcttgaa atgggagata 900
gcacgtgcag aggggtgaaga cccaggtcgc aggcctgatt tccgggaagc tccaagcgat 960
ggattgaagt ttcgtccgtg gctttctgcg gtgtgggccg acgtcgtaga tcatccggac 1020
cccaaggaaa aagaaaagca cgtcagtgcc ggactggag tggactacgc ggagggcacg 1080
cgagggtcag atccgaaaag gcttgcggtg tacttctcca agcatggaac ctttgccgac 1140
aaggaatatc agcacgtagt tcctgctcaa tggcagaaaa cgggtgcggg acctggcagg 1200
ttctggggct accgcggttt gtcgccggcc acggctgcca ccgagatttc ctgggatgag 1260

tacctgcttt tatctcgac gttgcgacga ttgtcagcgc gaacgaagat ctgggacccg 1320
gctttacgag gcggtagcgg cggccacaga tggactaagg cgatgatgcg acgcacggtt 1380
acccggcacc gcttggacct cgtgaccggt gagattctgg gcacgaagac gcggaagggtt 1440
cgggcgccag tgaagagggtt tgtccggact tcgggatacc tgttgttcaa tgacggggccc 1500
gcactggctc gaaccctcag ccgtcttcgt acaagctgcc tgagctag 1548

<210> 6
<211> 1116
<212> DNA
<213> Rhodococcus erythropolis

<220>
<221> misc_feature
<223> 1294bp to 2409bp pRET1100

<400> 6
atggcggctg ccaggcataa ctcgccgtac gacttcgacg tggacgatga agagttggcg 60
gaactggctt ctctgcaagg cctcgaggac gacgacattg ggggctggtc tgcggagagg 120
gaaatagtgg gctgggtctgc tcgttctcgg tcacggatga tcttgcaat ggcagaactc 180
gactgggctc ccatgatgga tttgccgggc attcctgcga tgggtgacct cacctatccg 240
ggggactggc ttacggttgc cccaccggc gctgaggatca aaaaacatct ccagacgttc 300
ttcaaacggt tccaacgggc ctggggcatt gcctggatgg gtgcgtggaa aatggagttc 360
caaagccgag gcgctccgca tttcacctg tacatgggtcc ctctcatgg gaaggcagga 420
gactcgcgga agctgcggca tgatgctgag ctcttgaaat gggagatagc acgtgcagag 480
ggtgaagacc caggtcgcag gccgtatttc cgggaagctc caagcgatgg attgaagttt 540
cgtccgtggc tttctgcggt gtgggcccgc gtcgtagatc atccggaccc caaggaaaaa 600
gaaaagcacg tcagtgccgg cactggagtg gactacgcgg agggcacgcg agggtcagat 660
ccgaaaaggc ttgcggtgta cttctccaag catggaacct ttgccgaca ggaatatcag 720
cacgtagttc ctgctcaatg gcagaaaacg ggtgcgggac ctggcagggtt ctggggctac 780
cgcggtttgt cgccggccac ggctgccacc gagatttcct gggatgagta cctgctttta 840

tctcgcacgt tgcgacgatt gtcagcgcga acgaagatct gggacccggc tttacgaggc 900
ggtagcggcg gccacagatg gactaaggcg atgatgcgac gcacggttac ccggcaccgc 960
ttggacctcg tgaccggtga gattctgggc acgaagacgc ggaagggttcg ggcgccagtg 1020
aagaggtttg tccggacttc gggataacctg tgtgtcaatg acgggcccgc actggctcga 1080
accctcagcc gtcttcgtac aagctgcctg agctag 1116

<210> 7
<211> 960
<212> DNA
<213> Rhodococcus erythropolis

<220>
<221> misc_feature
<223> 1450bp to 2409bp pRET1100

<400> 7
atgatcttgc gaatggcaga actcgactgg gtccccatga tggatttgcg gggcattcct 60
gcgatggtga ccttcaccta tccggggggac tggcttacgg ttgccccac cggcgctgag 120
gtcaaaaaac atctccagac gttcttcaaa cggttccaac gggcctgggg cattgcctgg 180
atgggtgcgt ggaaaatgga gttccaaagc cgaggcgctc cgcattttca cctgtacatg 240
gtccctcctc atgggaaggc aggagactcg cggaagctgc ggcgatgatgc tgagctcttg 300
aaatgggaga tagcacgtgc agagggtgaa gaccaggtc gcaggccgta tttccgggaa 360
gctccaagcg atggattgaa gtttcgtccg tggctttctg cgggtgtgggc cgacgtcgta 420
gatcatccgg accccaagga aaaagaaaag cacgtcagtg ccggcactgg agtggactac 480
gcggagggca cgcgagggtc agatccgaaa aggcttgcgg tgtacttctc caagcatgga 540
acctttgccg acaaggaata tcagcacgta gttcctgctc aatggcagaa aacgggtgcg 600
ggacctggca ggttctgggg ctaccgcggt ttgtcgccgg ccacggctgc caccgagatt 660
tcctgggatg agtacctgct tttatctcgc acgttgcgac gattgtcagc gcgaacgaag 720
atctgggacc cggctttacg aggcggtagc ggcggccaca gatggactaa ggcgatgatg 780
cgacgcacgg ttaccggca ccgcttggac ctcgtgaccg gtgagattct gggcacgaag 840

acgcggaagg ttctggcgcc agtgaagagg tttgtccgga cttcgggata cctgtgtgtc 900
aatgacgggc ccgcactggc tcgaaccctc agccgtcttc gtacaagctg cctgagctag 960

<210> 8
<211> 948
<212> DNA
<213> Rhodococcus erythropolis

<220>
<221> misc_feature
<223> 1462bp to 2409bp pRET1100

<400> 8
atggcagaac tcgactgggc tcccatgatg gatttgcgg gcattcctgc gatggtgacc 60
ctcacctatc cgggggactg gcttacggtt gccccaccg gcgctgaggt caaaaaacat 120
ctccagacgt tcttcaaacg gttccaacgg gcctggggca ttgcctggat gggtgcgtgg 180
aaaatggagt tccaaagccg aggcgctccg cattttcacc tgtacatggt ccctcctcat 240
gggaaggcag gagactcgcg gaagctgcgg catgatgctg agctcttgaa atgggagata 300
gcacgtgcag aggggtgaaga cccaggctgc aggccgtatt tccgggaagc tccaagcgat 360
ggattgaagt ttcgtccgtg gctttctgcg gtgtggggcg acgtcgtaga tcatccggac 420
cccaaggaaa aagaaaagca cgtcagtgcc ggcaactggag tggactacgc ggagggcacg 480
cgagggtcag atccgaaaag gcttgcggtg tacttctcca agcatggaac ctttgcgcac 540
aaggaatatc agcacgtagt tcctgctcaa tggcagaaaa cgggtgcggg acctggcagg 600
ttctggggct accgcggttt gtcgccggcc acggctgcca ccgagatttc ctgggatgag 660
tacctgcttt tatctcgcac gttgcgacga ttgtcagcgc gaacgaagat ctgggacccg 720
gctttacgag gcggtagcgg cggccacaga tggactaagg cgatgatgcg acgcacggtt 780
acccggcacc gcttggacct cgtgaccggt gagattctgg gcacgaagac gcggaagggt 840
cgggcgccag tgaagagggt tgtccggact tcgggatacc tgttgtgtcaa tgacgggccc 900
gcactggctc gaaccctcag ccgtcttcgt acaagctgcc tgagctag 948

<210> 9
<211> 924
<212> DNA
<213> Rhodoccus erythropolis

<220>
<221> misc_feature
<223> 1486bp to 2409bp pRET1100

<400> 9
atgatggatt tgccgggcat tcctgcatg gtgacctca cctatccggg ggactggctt 60
acggttgccc ccaccggcgc tgaggatcaa aaacatctcc agacgttctt caaacggttc 120
caacgggcct ggggcattgc ctggatgggt gcgtggaaaa tggagtcca aagccgaggc 180
gctccgcatt ttcacctgta catggtccct cctcatggga aggcaggaga ctgcggaag 240
ctgcggcatg atgctgagct cttgaaatgg gagatagcac gtgcagaggg tgaagacca 300
ggtcgcaggc cgtatttccg ggaagctcca agcgatggat tgaagtttcg tccgtggctt 360
tctgcggtgt gggccgacgt cgtagatcat ccggaccca aggaaaaaga aaagcacgtc 420
agtgccggca ctggagtgga ctacgcggag ggcacgcgag ggtcagatcc gaaaaggctt 480
gcggtgtact tctccaagca tggaaccttt gccgacaagg aatatcagca cgtagttcct 540
gctcaatggc agaaaacggg tgcgggacct ggcaggttct ggggctaccg cggtttgtcg 600
ccggccacgg ctgccaccga gatttcctgg gatgagtacc tgcttttatc tcgcacgttg 660
cgacgattgt cagcgcgaac gaagatctgg gaccggctt tacgaggcgg tagcggcggc 720
cacagatgga ctaaggcgat gatgcgacgc acggttacc ggcaccgctt ggacctcgtg 780
accggtgaga ttctgggcac gaagacgcgg aaggttcggg cgccagtga gaggtttgtc 840
cggacttcgg gatactgtg tgtcaatgac gggcccgac tggctcgaac cctcagccgt 900
cttcgtacaa gctgcctgag ctag 924

<210> 10
<211> 921
<212> DNA
<213> Rhodococcus erythropolis

<220>

<221> misc_feature
<223> 1489bp to 2409bp pRET1100

<400> 10
atggatttgc cgggcattcc tgcgatggtg accctcacct atccggggga ctggcttacg 60
gttgccccc cgggcgtga ggtcaaaaaa catctccaga cgttcttcaa acggttccaa 120
cgggcctggg gcattgcctg gatgggtgcg tggaaaatgg agttccaaag ccgaggcgct 180
ccgcattttc acctgtacat ggtccctcct catgggaagg caggagactc gcggaagctg 240
cggcatgatg ctgagctctt gaaatgggag atagcacgtg cagagggtga agaccaggt 300
cgcaggccgt atttccggga agctccaagc gatggattga agtttcgtcc gtggctttct 360
gcggtgtggg ccgacgtcgt agatcatccg gacccaagg aaaaagaaaa gcacgtcagt 420
gccggcactg gaggggacta cgcggagggc acgcgagggt cagatccgaa aaggcttgcg 480
gtgtacttct ccaagcatgg aacctttgcc gacaaggaat atcagcacgt agttcctgct 540
caatggcaga aaacgggtgc gggacctggc aggttctggg gctaccgcgg tttgtcgccg 600
gccacggctg ccaccgagat ttcttgggat gagtacctgc ttttatctcg cacgttgca 660
cgattgtcag cgcgaacgaa gatctgggac cggcctttac gaggcggtag cggcggccac 720
agatggacta aggcgatgat gcgacgcacg gttaccgggc accgcttgga cctcgtgacc 780
ggtgagattc tgggcacgaa gacgcggaag gttcgggcgc cagtgaagag gtttgtccgg 840
acttcgggat acctgtgtgt caatgacggg cccgcactgg ctcgaaccct cagccgtctt 900
cgtacaagct gcctgagcta g 921

<210> 11
<211> 897
<212> DNA
<213> Rhodococcus erythropolis

<220>
<221> misc_feature
<223> 1513bp to 2409bp pRET1100

<400> 11
atggtgacct tcacctatcc gggggactgg cttacggttg cccccaccgg cgctgaggtc 60

aaaaaacatc tccagacgtt cttcaaacgg ttccaacggg cctggggcat tgcctggatg 120
ggtgcgtgga aaatggagtt ccaaagccga ggcgtccgc attttcacct gtacatggtc 180
cctcctcatg ggaaggcagg agactcgcgg aagctgcggc atgatgctga gctcttgaag 240
tgggagatag cacgtgcaga ggggtgaagac ccaggctgca ggccgtatit cggggaagct 300
ccaagcgaig gattgaagtt tcgtccgtgg ctttctgcgg tgtgggcccga cgtcgtagat 360
catccggacc ccaaggaaaa agaaaagcac gtcagtgccg gcactggagt ggactacgcg 420
gagggcacgc gagggtcaga tccgaaaagg cttgcggtgt acttctccaa gcatggaacc 480
tttgccgaca aggaatatca gcacgtagtt cctgctcaat ggcagaaaac ggggtgcggga 540
cctggcaggt tctgggggcta ccgcggtttg tcgccggcca cggctgccac cgagatttcc 600
tgggatgagt acctgctttt atctcgcacg ttgcgacgat tgtcagcgcg aacgaagatc 660
tgggacccgg ctttacgagg cggtagcggc ggccacagat ggactaaggc gatgatgcga 720
cgcacggita cccggcaccg cttggacctc gtgaccggtg agattctggg cacgaagacg 780
cggaaggttc gggcgccagt gaagaggttt gtccggactt cgggatacct gtgtgtcaat 840
gacgggcccc cactggctcg aaccctcagc cgtcttcgta caagctgcct gagctag 897

<210> 12
<211> 780
<212> DNA
<213> Rhodococcus erythropolis

<220>
<221> misc_feature
<223> 1630bp to 2409bp pRET1100

<400> 12
atgggtgcgt ggaaaatgga gttccaaagc cgaggcgctc cgcattttca cctgtacatg 60
gtccctctc atgggaaggc aggagactcg cggaagctgc ggcatgatgc tgagctcttg 120
aaatgggaga tagcacgtgc agagggtgaa gaccaggtc gcaggccgta tttccgggaa 180
gtccaagcg atggattgaa gtttcgtccg tggctttctg cgggtgtgggc cgacgtcgta 240
gatcatccgg accccaagga aaaagaaaag cacgtcagtg ccggcactgg agtggactac 300

gcggagggca cgcgagggtc agatccgaaa aggcttgcgg tgtacttctc caagcatgga 360
acctttgccg acaaggaata tcagcacgta gttcctgctc aatggcagaa aacgggtgcg 420
ggacctggca ggttctgggg ctaccgcggt ttgtcgccgg ccacggctgc caccgagatt 480
tcctgggatg agtacctgct tttatctcgc acgttgcgac gattgtcagc gcgaacgaag 540
atctgggacc cggctttacg aggcggtagc ggcgccaca gatggactaa ggcatgatg 600
cgacgcacgg ttaccggca ccgcttggac ctcgtgaccg gtgagattct gggcacgaag 660
acgcggaagg ttcgggcgcc agtgaagagg tttgtccgga cttcgggata cctgtgtgtc 720
aatgacgggc ccgactggc tcgaaccctc agccgtcttc gtacaagctg cctgagctag 780

<210> 13
<211> 765
<212> DNA
<213> Rhodococcus erythropolis

<220>
<221> misc_feature
<223> 1645bp to 2409bp pRET1100

<400> 13
atggagttcc aaagccgagg cgctccgcat tttcacctgt acatgggtccc tcctcatggg 60
aaggcaggag actcgcggaa gctgcggcat gatgctgagc tcttgaaatg ggagatagca 120
cgtgcagagg gtgaagaccc aggtcgcagg ccgtatttcc gggaagctcc aagcgatgga 180
ttgaagtttc gtccgtggct ttctgcggtg tgggccgacg tcgtagatca tccggacccc 240
aaggaaaaag aaaagcacgt cagtgccggc actggagtgg actacgcgga gggcacgcga 300
gggtcagatc cgaaaaggct tgcggtgtac ttctccaagc atggaacctt tgccgacaag 360
gaatatcagc acgtagtctc tgctcaatgg cagaaaacgg gtgcgggacc tggcaggttc 420
tggggctacc gcggtttgtc gccggccacg gctgccaccg agatttcctg ggatgagtac 480
ctgcttttat ctcgcacgtt gcgacgattg tcagcgcgaa cgaagatctg ggacccggct 540
ttacgaggcg gtagcggcgg ccacagatgg actaaggcga tgatgcgacg cacggttacc 600
cggcaccgct tggacctcgt gaccggtgag attctgggca cgaagacgcg gaaggttcgg 660

gcgccagtga agaggtttgt ccggacttcg ggatacctgt gtgtcaatga cgggcccgcga 720
ctggctcgaa ccctcagccg tcttcgtaca agctgcctga gctag 765

<210> 14
<211> 723
<212> DNA
<213> Rhodococcus erythropolis

<220>
<221> misc_feature
<223> 1687bp to 2409bp pRET1100

<400> 14
atggtccctc ctcattgggaa ggcaggagac tcgcggaagc tgcggcatga tgctgagctc 60
ttgaaatggg agatagcacg tgcagagggt gaagacccag gtcgcaggcc gtatttcagg 120
gaagctccaa gcgatggatt gaagtttcgt ccgtggcttt ctgcggtgtg ggccgacgtc 180
gtagatcatc cggaccccaa ggaaaaagaa aagcacgtca gtgccggcac tggagtggac 240
tacgcggagg gcacgcgagg gtcagatccg aaaaggcttg cgggtgtactt ctccaagcat 300
ggaacctttg ccgacaagga atatcagcac gtagttcctg ctcaatggca gaaaacgggt 360
gcgggacctg gcaggttctg gggctaccgc gggtttgtcg cggccacggc tgccaccgag 420
atttcctggg atgagtacct gcttttatct cgcacgttgc gacgattgtc agcgcgaacg 480
aagatctggg acccggcttt acgaggcggg agcggcggcc acagatggac taaggcgaatg 540
atgcgacgca cggttaccg gcaccgcttg gacctcgtga ccggtgagat tctgggcacg 600
aagacgcgga aggttcgggc gccagtgaag aggtttgtcc ggacttcggg atacctgtgt 660
gtcaatgacg ggcccgcact ggctcgaacc ctcagccgtc ttcgtacaag ctgcctgagc 720
tag 723

<210> 15
<211> 186
<212> DNA
<213> Rhodococcus erythropolis

<220>

<221> misc_feature
<223> 2224bp to 2409bp pRET1100

<400> 15
atgatgcgac gcacgggttac ccggcaccgc ttggacctcg tgaccggtga gattctgggc 60
acgaagacgc ggaagggttcg ggcgccagtg aagaggtttg tccggacttc gggataacctg 120
tgtgtcaatg acgggcccgc actggctcga accctcagcc gtcttcgtac aagctgcctg 180
agctag 186

<210> 16
<211> 183
<212> DNA
<213> Rhodococcus erythropolis

<220>
<221> misc_feature
<223> 2227bp to 2409bp pRET1100

<400> 16
atgcgacgca cggttacccg gcaccgcttg gacctcgtga ccggtgagat tctgggcacg 60
aagacgcgga aggttcgggc gccagtgaag aggtttgtcc ggacttcggg atacctgtgt 120
gtcaatgacg ggcccgcact ggctcgaacc ctcagccgtc ttcgtacaag ctgcctgagc 180
tag 183

<210> 17
<211> 432
<212> DNA
<213> Rhodococcus erythropolis

<220>
<221> misc_feature
<223> 1875bp to 1444bp pRET1100

<400> 17
atgatctacg acgtcggccc acaccgcaga aagccacgga cgaaacttca atccatcgct 60
tggagcttcc cggaataacg gcctgcgacc tgggtcttca ccctctgcac gtgctatctc 120
ccatttcaag agctcagcat catgccgcag cttccgcgag tctcctgcct tcccatgagg 180

agggaccatg tacaggtgaa aatgcggagc gcctcggctt tggaactcca ttttccacgc 240
acccatccag gcaatgcccc aggcccgttg gaaccgtttg aagaacgtct ggagatgttt 300
tttgacctca gcgccggttg gggcaaccgt aagccagtcc cccggatagg tgagggtcac 360
catcgcagga atgcccggca aatccatcat gggagcccag tcgagttctg ccattcgcaa 420
gatcatccgt ga 432

<210> 18
<211> 291
<212> DNA
<213> Rhodococcus erythropolis

<220>
<221> misc_feature
<223> 1734bp to 1444bp pRET1100

<400> 18
atgccgcagc ttccgcgagt ctctgcctt cccatgagga gggaccatgt acaggtgaaa 60
atgcggagcg cctcggcttt ggaactccat tttccacgca cccatccagg caatgccccca 120
ggccccgttg aaccgtttga agaacgtctg gagatgtttt ttgacctcag cgccggtggg 180
ggcaaccgta agccagtccc ccggataggt gagggtcacc atcgcaggaa tgcccggcaa 240
atccatcatg ggagcccagt cgagttctgc cattcgcaag atcatccgtg a 291

<210> 19
<211> 258
<212> DNA
<213> Rhodococcus erythropolis

<220>
<221> misc_feature
<223> 1701bp to 1444bp pRET1100

<400> 19
atgaggaggg accatgtaca ggtgaaaatg cggagcgcct cggcttttga actccatttt 60
ccacgcaccc atccaggcaa tgccccaggc ccgtttggaac cgtttgaaga acgtctggag 120
atgttttttg acctcagcgc cgggtgggggc aaccgtaagc cagtcccccg gataggtgag 180

ggtcaccatc gcaggaatgc ccggcaaadc catcatggga gccagtcga gttctgccat 240
tcgcaagatc atccgtga 258

<210> 20
<211> 231
<212> DNA
<213> Rhodococcus erythropolis

<220>
<221> misc_feature
<223> 1674bp to 1444bp pRET1100

<400> 20
atgcggagcg cctcggcttt ggaactccat tttccacgca cccatccagg caatgccccca 60
ggcccgttgg aaccgtttga agaacgtctg gagatgtttt ttgacctcag cgccggtggg 120
ggcaaccgta agccagtcac ccggataggt gagggtcacc atgcaggaa tgcccggcaa 180
atccatcatg ggagcccagt cgagttctgc cattcgcaag atcatccgtg a 231

<210> 21
<211> 138
<212> DNA
<213> Rhodococcus erythropolis

<220>
<221> misc_feature
<223> 1581bp to 1444bp pRET1100

<400> 21
atgttttttg acctcagcgc cgggtgggggc aaccgtaagc cagtcccccg gataggtgag 60
ggtcaccatc gcaggaatgc ccggcaaadc catcatggga gccagtcga gttctgccat 120
tcgcaagatc atccgtga 138

<210> 22
<211> 423
<212> DNA
<213> Rhodococcus erythropolis

<220>

<221> misc_feature
<223> 2828bp to 2406bp pRET1100

<400> 22
atggtgggag ggcaacactc ccaatacgct tcagttatga atgaagacag agacaacatc 60
atcgccaggt tccgcgtcga aatgctccgc tcaatcgagg atgcaattca tttagccgca 120
ctctccgca acgacgaaaa ccgttatgcc gcaacagaag acaatcgacc cgtgcggaca 180
caactatcgc aacaacagca ggttgtcctg accgagctga cattggccga ccacatggaa 240
aagctcgcgc gggagcacct cgtttaccta gccgacagag cgcgggagat gaattgcacc 300
tgggtagaga taggtcagtc gttgggtctc tctccccacg gagcgcagca gcgcatcacc 360
agaagccgcc caaaaccgc catccagcaa aagacaaagc cgaaaggcgt tccgcgcgtc 420
tag 423

<210> 23
<211> 387
<212> DNA
<213> Rhodococcus erythropolis

<220>
<221> misc_feature
<223> 2792bp to 2406bp pRET1100

<400> 23
atgaatgaag acagagacaa catcatcgcc aggttccgcg tcgaaatgct ccgctcaatc 60
gaggatgcaa ttcatttagc cgcactctcc gcgaacgacg aaaaccgtta tgccgcaaca 120
gaagacaatc gacccgtgcg gacacaacta tcgcaacaac agcaggttgt cctgaccgag 180
ctgacattgg ccgaccacat ggaaaagctc gcgcgggagc acctcgttta cctagccgac 240
agagcgcggg agatgaattg cacctgggta gagataggtc agtcgttggg tctctctccc 300
cacggagcgc agcagcgcac caccagaagc cgcccaaac ccgccatcca gcaaaagaca 360
aagccgaaag gcgttccgcg cgtctag 387

<210> 24
<211> 342

<212> DNA
<213> Rhodococcus erythropolis

<220>
<221> misc_feature
<223> 2747bp to 2406bp pRET1100

<400> 24
atgctccgct caatcgagga tgcaattcat ttagccgcac tctccgcgaa cgacgaaaac 60
cgttatgccg caacagaaga caatcgaccc gtgcggacac aactatcgca acaacagcag 120
gttgtcctga ccgagctgac attggccgac cacatggaaa agctcgcgcg ggagcacctc 180
gtttacctag ccgacagagc gcgggagatg aattgcacct gggtagagat aggtcagtcg 240
ttgggtctct ctccccacgg agcgcagcag cgcatcacca gaagccgccc aaaacccgcc 300
atccagcaaa agacaaagcc gaaaggcggtt ccgcgcgtct ag 342

<210> 25
<211> 189
<212> DNA
<213> Rhodococcus erythropolis

<220>
<221> misc_feature
<223> 2594bp to 2406bp pRET1100

<400> 25
atggaaaagc tcgcgcggga gcacctcggt tacctagccg acagagcgcg ggagatgaat 60
tgcacctggg tagagatagg tcagtcgttg ggtctctctc cccacggagc gcagcagcgc 120
atcaccagaa gccgccc aaa acccgccatc cagcaaaaga caaagccgaa aggcgttccg 180
cgcgtctag 189

<210> 26
<211> 135
<212> DNA
<213> Rhodococcus erythropolis

<220>
<221> misc_feature
<223> 2540bp to 2406bp pRET1100

<400> 26
atgaattgca cctgggtaga gataggtcag tcgttgggtc tctctcccca cggagcgcag 60
cagcgcacatca ccagaagccg cccaaaaccc gccatccagc aaaagacaaa gccgaaaggc 120
gttccgcgcg tctag 135

<210> 27
<211> 336
<212> DNA
<213> Rhodococcus erythropolis

<220>
<221> misc_feature
<223> 2971bp to 3306bp pRET1100

<400> 27
atggctttga aagctgctgg caacgtgatt cctgattcct ccgcgtacga gtaccgggcg 60
gttcaggctcg agccgaagat ggtcagaaaa gaccggaag acccgaactc tgagcagttc 120
cagaagcaga aggacggcac gccggtgtgg tcgatcgact gcattcgggt cgaccgggca 180
tcaggcaaca aggcaatcgt gaccgtgacg gttccggacg tgatggaacc ggatgttgcg 240
gggccggtgg agttctccga gatgattgcc ggtttctggg tticgcgcag tggttcgggc 300
atgtggtttt cggaagcgc cgtcgcttct ctctga 336

<210> 28
<211> 258
<212> DNA
<213> Rhodococcus erythropolis

<220>
<221> misc_feature
<223> 3049bp to 3306bp pRET1100

<400> 28
atggtcagaa aagacccgga agacccgaac tctgagcagt tccagaagca gaaggacggc 60
acgccggtgt ggtcgatcga ctgcattcgg gtcgaccggg catcaggcaa caaggcaatc 120
gtgaccgtga cggttccgga cgtgatggaa ccgatgttg cggggccggt ggagttctcc 180

gagatgattg ccggtttctg ggtttcgcgc agtggttcgg gcatgtggtt ttcggcaagc 240
gccgtcgcctt ctctctga 258

<210> 29
<211> 525
<212> DNA
<213> Rhodococcus erythropolis

<220>
<221> misc_feature
<223> 3577bp to 3053bp pRET1100

<400> 29
atgtcgatgt actgccctcc gctgaacggc cccagctctt ccggagagag aacgaggcac 60
ccggcaacgt ccgagaacac cccgttttcc cacttcggat cggccggcac tctcagcggc 120
acagcttcgg actgtgaacg atcactgaac acgttcgccg cttgcccaacc tgccgcaacc 180
agcacaaaca cgagcacgag ggcacccaca cccagcgcaa cgccttttcc tttggacatt 240
tccgaacctt tcgaggggcg acgatcagcg atcagagaga agcgacggcg cttgccgaaa 300
accacatgcc cgaaccactg cgcgaaaccc agaaaccggc aatcatctcg gagaactcca 360
ccggccccgc aacatccggt tccatcacgt ccggaaccgt cacggtcacg attgccttgt 420
tgctgatgc ccggtcgacc cgaatgcagt cgatcgacca caccggcgtg ccgtccttct 480
gcttctggaa ctgctcagag ttcgggtctt ccgggtcttt tctga 525

<210> 30
<211> 519
<212> DNA
<213> Rhodococcus erythropolis

<220>
<221> misc_feature
<223> 3571bp to 3053bp pRET1100

<400> 30
atgtactgcc ctccgctgaa cggccccagc tcttccggag agagaacgag gcacccggca 60
acgtccgaga acaccccggt ttccacttc ggatcggccg gcactctcag cggcacagct 120

tcggactgtg aacgatcact gaacacgttc gccgcttgcc aacctgccgc aaccagcaca 180
aacacgagca cgagggcacc cacacccagc gcaacgcctt ttcctttgga catttccgaa 240
cctttcgagg ggcgacgac agcgatcaga gagaagcgac ggcgcttgcc gaaaaccaca 300
tgcccgaacc actgcgcgaa acccagaaac cggcaatcat ctcggagaac tccaccggcc 360
ccgcaacatc cggttccatc acgtccggaa ccgtcacggt cacgattgcc ttgttgccctg 420
atgcccggtc gacccgaatg cagtcgatcg accacaccgg cgtgccgtcc ttctgcttct 480
ggaactgctc agagttcggg tcttccgggt cttttctga 519

<210> 31
<211> 564
<212> DNA
<213> Rhodococcus erythropolis

<220>
<221> misc_feature
<223> 3339bp to 3902bp pRET1100

<400> 31
atgtccaaag gaaaaggcgt tgcgctgggt gtgggtgccc tcgtgctcgt gtttgtgctg 60
gttgccggcag gttggcaagc ggcgaaactg ttcagtgatc gttcacagtc cgaagctgtg 120
ccgctgagag tgccggccga tccgaagtgg gaaaacgggg tgttctcgga cgttgccggg 180
tgccctgttc tctctccgga agagctgggg ccgttcagcg gagggcagta catcgacata 240
gtgaggccag ttgagccgga gaggttgag cgcgactggg tgaggtcggc tgagtgcgtt 300
tcggcgctga tgaatgtctc tgacctgttg gtttctgctc ttccagagtc caccgtccc 360
cccggcgatt tcgttcgttc gtggaaagtg gcgagtgatg attactgcta tgagggtgat 420
aaccgcgaag gctgcacttc tcgtatgccg gtttgggtct ctgcaaaaaa ctggtggtgc 480
acagaacccg tactcgatcc gctcgttcgt cgctgtgagg tctttcctgc aaggcaaatc 540
gttgtgccgg aagggttttc gtga 564

<210> 32
<211> 255

<212> DNA
<213> Rhodococcus erythropolis

<220>
<221> misc_feature
<223> 3648bp to 3902bp pRET1100

<400> 32
atgaatgtct ctgacctgtt ggtttctgct ctccagagt ccaccgtcc ccccgcgat 60
ttcgttcgtt cgtggaaagt ggcgagtgat gattactgct atgagggtga taaccgcaa 120
ggctgcactt ctctatgcc ggtttgggtc tctgcaaaa actggtggtg cacagaaccc 180
gtactcgatc cgctcgttcg tcgctgtgag gtctttcctg caaggcaaat cgttgtgccg 240
gaaggggttt cgtga 255

<210> 33
<211> 669
<212> DNA
<213> Rhodococcus erythropolis

<220>
<221> misc_feature
<223> 4366bp to 5034bp pRET1100

<400> 33
atgggcaccc cacgccaag taaccgctgg tgcgctggat atttcggcgg tggctcgtg 60
agcggggaga agcggcacag cgaggccggc ccggtagaaa tcacttttt gatgctggca 120
gtcagggcgg gggactacat cgtcgccgtg actgcggttc tcgcggtcgg gttcttcgcg 180
gtcgcggttg agggtttctg gttcctggtc gtcgcagtca tcgctgcacc ggcgtggtg 240
tttctgcgcg actgggaatc gaagcggagg gccgtacggg tctttgaacg ggcattggaag 300
gggacacctg aatcccccg tttgctctc tcccttggcc tgtcgaacgt ggcggggctt 360
ctgccgaggt tgaggaagtt tgaaactggt tcggggatac gcacactcgt gttttctttg 420
ccgcccggag tcttgccga gagctttgag aaagtctgcc ctgcgctggc agacgcgatg 480
gggggtcacc gctgccaagt agagaagggt gcccccggac aggtccgcgt cagagtgatt 540
gatgaggatt cgatgaagac gccgcgtgat gcgggatggg cgaaagatgt tgtgctggaa 600

gaggatacgt tcgacggtct tccgggcgag acgcgacctt gggtcgagca agagggggccg 660
gcatcatga 669

<210> 34
<211> 558
<212> DNA
<213> Rhodococcus erythropolis

<220>
<221> misc_feature
<223> 4477bp to 5034bp pRET1100

<400> 34
atgctggcag tcagggcgagg ggactacatc gtcgccgtga ctgcggttct cgcggtcggg 60
ttcttcgcgg tcgcggttga gggtttcttg ttcctggctg tcgcagtcac cgctgcaccg 120
gcgtggtggt ttctgcgcga ctgggaatcg aagcggaggg ccgtacgggt ctttgaacgg 180
gcatggaagg ggacacctga atcccccggt attgctctct cccttggcct gtcgaacgtg 240
gcgggggtctc tgccgagggt gaggaagttt gaaactgggt cggggatacgc cacactcgtg 300
ttttctttgc cggccggagt cactgccgag agctttgaga aagttcgccc tgcgctggca 360
gacgcgatgg ggggtcaccg ctgccaagta gagaagggtg cccccggaca ggtccgcgtc 420
agagtgattg atgaggattc gatgaagacg ccgcgtgatg cgggatgggc gaaagatgtt 480
gtgctggaag aggatacgtt cgacgggtctt ccgggcgaga cgcgaccttg gttcgagcaa 540
gaggggcccgg catcatga 558

<210> 35
<211> 791
<212> DNA
<213> Rhodococcus erythropolis

<220>
<221> misc_feature
<223> 2410bp to 3200bp pRET1100

<400> 35
acgcgcggaa cgcctttcgg ctttgtcttt tgctggatgg cgggttttgg gcggcttctg 60

gtgatgcgct gctgcgctcc gtggggagag agaccaacg actgacctat ctctaccag 120
 gtgcaattca tctcccgcg cctgtcggct aggtaaacga ggtgctcccg cgcgagcttt 180
 tccatgtggt cggccaatgt cagctcggtc aggacaacct gctgttgttg cgatagttgt 240
 gtccgcacgg gtcgattgtc ttctgttgcg gcataacggg tttcgtcgtt cgcggagagt 300
 gcggctaaat gaattgcac ctcgattgag cggagcatit cgacgcggaa cctggcgatg 360
 atgttgtctc tgtcttcatt cataactgaa gcgtattggg agtgttgccc tcccaccatg 420
 tgtgccaatg caggtgtgaa ctgagtcaca gtttctcaat agactccaag tttgtgatcc 480
 ttttactccc aaaatggggc atgatgtgtg cgtgcctcgg ttcaggggcg aaagtctgac 540
 acctcgaaag aaggcctcga catggctttg aaagctgctg gcaacgtgat tcctgattcc 600
 tccgcgtacg agtaccgggc ggttcaggtc gagccgaaga tggtcagaaa agaccggaa 660
 gaccggaact ctgagcagtt ccagaagcag aaggacggca cgccggtgtg gtcgatcgac 720
 tgcatcggg tcgaccgggc atcaggcaac aaggcaatcg tgaccgtgac ggttcggac 780
 gtgatggaac c 791

<210> 36
 <211> 501
 <212> DNA
 <213> Rhodococcus erythropolis

<220>
 <221> misc_feature
 <223> 1000bp to 1500bp pRET1100

<400> 36
 cttgttacat ctgccacaac tgtccgtgaa tctctgccag ctccctgaaac cgctggtcag 60
 ggccttgagg aatccgtgac cgctgatgat ttttggcttc attcggtccc ccgcgtgac 120
 gatgtacgag gcgcagctgc ttccttccag tcgggtggcta actgggatgg gcgtgagggt 180
 ccgaggccgc gtttcgttgt cgcgctggc gttgtccgct tggaggtttg tgatctcgca 240
 cgccgcgaac gaacggctga acgtgcgtat ctggctgctc gggctcgggt ggatatggcg 300
 gctgccaggc ataactcgcc gtacgacttc gacgtggacg atgaagagtt ggcggaactg 360

gcttctctgc aaggcctcga ggacgacgac attgggggct ggtctgcgga gagggaaata 420
gtgggctgggt ctgctcggtt tcggtcacgg atgatcttgc gaatggcaga actcgactgg 480
gctcccatga tggatttgcc g 501

<210> 37
<211> 945
<212> DNA
<213> Rhodococcus erythropolis

<220>
<221> misc_feature
<223> 5000bp to 500bp pRET1100

<400> 37
gatacctgggt cgagcaagag gggccggcat catgagaaaa tcggcgggag tatctcggat 60
tcctatccgt ctcgggcgct ctgagtcagg ggaagacgtt ggattcgatc tcgctgcgga 120
cgccgctcac atcgccatgc agggcaaaac ccgatccggc aaaagtcagg cgacgtacaa 180
cgtgttagct caggcagcag cgaacgcggc gggtcgagtc gtaggggtccg acccgacaca 240
cgtactcctg gagcccttca aacatcgagg ggtgtccgag ccttacgtgg tttcgggact 300
gaatgcgcag gccacgggtg acatgctggg ctgggtcaag cgtgagtctg atcgctgcac 360
cgaccagatg tggcccctgc gtaccgacaa gttttccgag ttcggggcctt cgttcccgt 420
gatactcgtc gtgctcgaag agtttcccgg gatcctcgag ggggcagcgg acgaagacgc 480
cgcgttaggc cgaaaacctg ccgagcgtct cgcacccgc atttcggcct acgtgcgtca 540
gatagcagcg cagtcggcaa aggctggaat tcgccttctc ctgctctcgc aacgagcgga 600
ggcctcgatc attggcggca atgcgcgttc gaatttcggg gtcaagatga ctctgagggt 660
ggacgaaccg gtagtcgtga gaatgcttca tccgagcgt tccccggaag actgtgccct 720
ggtcgagacc ttcaagcctg gtacctgcct tttcgagaag ccaggagaag gccggcagat 780
tatgcgatgc gactttgtcg gcgagtcagg gagatatgcg cgagccatcg agtcttcgga 840
tctgcgtttt ctgccaccc tccagcaaga ccaggcccaa cgcaattct tcgctgagga 900
gttcggtgtg gtggatccgt catgactgga ccacaggaga gaaag 945

<210> 38
<211> 939
<212> DNA
<213> Rhodococcus rhodnii

<220>
<221> misc_feature
<223> 3350bp to 2412bp pRET1000

<400> 38
atggttgcgg tggaagagca cacaggcggc gcctgggaac agctgtggct accgctgtgg 60
ccactggcaa ccgacgattt cctcgacggc gtctaccgga tgcggcgatc agacgcactg 120
gatcgccgct acatcgagtc gaacccgcag gcattgagca acctgctcgt cgtggacgtt 180
gaccacccgg acgccgcgct gcgggcgctg tcggcgggccg ggaatcatcc tctgccgaac 240
gcgatcgtgg agaacccccg taacgggcac gcacacgtg tgtgggcgct ggcagagccg 300
ttcacccgca ccgagtacgc ccgtcgtaag ccgtcgcct atgcggccgc cgtcaccgaa 360
ggcctccggc gcgccgtcca gggggacaag ggctattcgg gcctgatgac caagaacccg 420
actcacggtg actgggacac ccattggctg cacaccgagc ggcgatccct cgccgagctc 480
gaggcggaac tcggcatcca catgccgcca acgcgctggc ggcaaaccg atcgcgccgt 540
gagaacccga tcggcctcgg ccgaaactgc gccctgttcg aaaccgcacg cacctgggcc 600
taccgcgaaa tccgcttcca ctggggcgac ccgaccggcc tcggggccgc gatctatgcg 660
gaagccgcac agatcaacgc cacgttcagg aaccgggtca caggcaggcc cgatccactg 720
ccagcaagcg agctacgcgc cgtcgcggcc tccattaccc gctggatcac taaaagtcc 780
cggatgtggg ccgacggccc tgctgtctac gaggccacat tcatcgccat acaagccgca 840
cgcggtcgca agatgagtga gaagaagcgc gaggcaaacc ggaaacgagc gacgaaggtc 900
gaccggaacg cattgtggga ggcagaccgt gggcgctga 939

<210> 39
<211> 840
<212> DNA
<213> Rhodococcus rhodnii

<220>
<221> misc_feature
<223> 3251bp to 2412bp pRET1000

<400> 39
atgcgcgat cagacgcact ggatcgccgc tacatcgagt cgaacccgca ggcattgagc 60
aacctgctcg tcgtggacgt tgaccacccg gacgccgcgc tgcggggcgct gtcggcggcc 120
gggaatcatc ctctgccgaa cgcgatcgtg gagaaccccc gtaacgggca cgcacacgct 180
gtgtggggcg tggcagagcc gttcacccgc accgagtacg cccgtcgtaa gccgctcgcc 240
tatgcgggcg ccgtcaccga aggcctccgg cgcgccgtcc aggggggacaa gggctattcg 300
ggcctgatga ccaagaaccc gactcacggt gactgggaca ccattgggt gcacaccgag 360
cggcgatccc tcgccgagct cgaggcggaa ctcggcattc acatgccgcc aacgcgctgg 420
cggcaaaccc gatcgcgccg tgagaacccg atcggcctcg gccgaaactg cgccctgttc 480
gaaaccgcac gcacctgggc ctaccgcgaa atccgcttc actggggcga cccgaccggc 540
ctcggggccg cgatctatgc ggaagccgca cagatcaacg ccacgttcag gaacccggtc 600
acaggcaggc ccgatccact gccagcaagc gagctacgcg ccgtcgcggc ctccattacc 660
cgctggatca ctacaaagtc ccggatgtgg gccgacggcc ctgctgtcta cgaggccaca 720
ttcatcgcca tacaagccgc acgcggtcgc aagatgagtg agaagaagcg cgaggcaaac 780
cggaacgag cgacgaaggt cgaccggaac gcattgtggg aggcagaccg tgggcgctga 840

<210> 40
<211> 534
<212> DNA
<213> Rhodococcus rhodnii

<220>
<221> misc_feature
<223> 2945bp to 2412bp pRET1000

<400> 40
atgaccaaga acccgactca cgggtgactgg gacaccatt ggctgcacac cgagcggcga 60
tccctcgccg agctcgaggc ggaactcggc atccacatgc cgccaacgcg ctggcggcaa 120

acccgatcgc gccgtgagaa cccgatcggc ctcgccgaa actgcgccct gttcgaaacc 180
gcacgcacct gggcctaccg cgaaatccgc ttccactggg gcgacccgac cggcctcggg 240
gccgcgatct atgcggaagc cgcacagatc aacgccacgt tcaggaaccc ggtcacaggc 300
aggcccgatc cactgccagc aagcgagcta cgcgccgtcg cggcctccat taccgctgg 360
atcactacaa agtcccggat gtgggccgac ggccctgctg tctacgaggc cacattcatc 420
gccatacaag ccgcacgcgg tcgcaagatg agtgagaaga agcgcgaggc aaaccggaaa 480
cgagcgacga aggtcgaccg gaacgcattg tgggaggcag accgtgggcg ctga 534

<210> 41
<211> 438
<212> DNA
<213> Rhodococcus rhodnii

<220>
<221> misc_feature
<223> 2849bp to 2412bp pRET1000

<400> 41
atgccgcaa cgcgctggcg gcaaaccga tcgcgccgtg agaaccgat cggcctcggc 60
cgaaactgcg ccctgttcga aaccgcacgc acctgggcct accgcgaaat ccgcttcac 120
tggggcgacc cgaccggcct cggggccgcg atctatgcgg aagccgcaca gatcaacgcc 180
acgttcagga acccggtcac aggcaggccc gatccactgc cagcaagcga gctacgcgcc 240
gtcgcggcct ccattaccg ctggatcact acaaagtccc ggatgtgggc cgacggccct 300
gctgtctacg aggccacatt catcgccata caagccgcac gcggtcgcaa gatgagttag 360
aagaagcgcg aggcaaaccg gaaacgagcg acgaaggctg accggaacgc attgtgggag 420
gcagaccgtg ggcgctga 438

<210> 42
<211> 207
<212> DNA
<213> Rhodococcus rhodnii

<220>

<221> misc_feature
<223> 2365bp to 2159bp pRET1000

<400> 42
atgggggcct ccacgcgcac gatccagcgc atcatggccg agccgcggga ccagttcctc 60
gcacgggcag ccgagaaccg tcgccgggcc gtcgagctgc gcgagcaggg cctgaagtac 120
cgcgagatcg ccgaggagat gggaatctcc accggaacgg tgggaaagct cctgcacgac 180
gcacgcaagt acgcggtcag ctcttag 207

<210> 43
<211> 174
<212> DNA
<213> Rhodococcus rhodnii

<220>
<221> misc_feature
<223> 2332bp to 2159bp pRET1000

<400> 43
atggccgagc cgcgggacca gticctcgca cgggcagccg agaaccgtcg ccgggccgtc 60
gagctgcgag agcagggcct gaagtaccgc gagatcgccg aggagatggg aatctccacc 120
ggaacggtgg gaaagctcct gcacgacgca cgcaagtacg cggtcagctc ctag 174

<210> 44
<211> 330
<212> DNA
<213> Rhodococcus rhodnii

<220>
<221> misc_feature
<223> 3197bp to 3526bp pRET1000

<400> 44
atgcctgcgg gticgactcg atgtagcggc gatccagtgc gtctgatcgc cgcattccggt 60
agacgccgtc gaggaaatcg tcggttgcca gtggccacag cggtagccac agctgttccc 120
aggcgccgcc tgtgtgctct tccaccgcaa ccatggggaa cacactcaca cacaagatcg 180
atttattccg gtacgacacg ccagccaagt cagatgtttc ggtttctgga gcggtcctcc 240

agacctttga gatccgtcc agaaacgtcc acaaattatt ggggtacgtc gaaccaagcc 300

ttatcaggta tcccggggtt ccgggggtga 330

<210> 45

<211> 357

<212> DNA

<213> Rhodococcus rhodnii

<220>

<221> misc_feature

<223> 4035bp to 3679bp pRET1000

<400> 45

atggggtggt tattgcttgt tgcgtcgggg gccgtggcga tgggtggccgg tgtggtctta 60

ccgcgccggg atcgtctcgg gccggcacca ggatttcctt ggttctgggt ggtgttccca 120

tccacgtgca ttgccatcgc tgccgcggtg ggtgtcttcg cttggcccca agcggttacc 180

ggcacgggga gctactggtg ggatccgccc agcgcgagct caccgaccct gcagttcctg 240

tcaaacgagc agtaccggcg cctcgtgaca ctgcgccggt tgcagggggc gctaccggtg 300

gtgtccctcg tgggaagcgg attgtgcgtg tgggcctggc gtcgacgccg cttctga 357

<210> 46

<211> 318

<212> DNA

<213> Rhodococcus rhodnii

<220>

<221> misc_feature

<223> 3996bp to 3679bp pRET1000

<400> 46

atgggtggccg gtgtggtctt accgcgccgg gatcgtctcg ggccggcacc aggatttccc 60

tggttctggg tgggtgtccc atccacgtgc attgccatcg ctgccgcggt ggggtgtcttc 120

gcttggcccc aagcggttac cggcacgggg agctactggt gggatccgcc cagcgcgagc 180

tcaccgacc tgcagttcct gtcaaacgag cagtaccggc gcctcgtgac actgcgccgg 240

ttgcaggggg cgctaccggt ggtgtccctc gtgggaagcg gattgtgcgt gtgggcctgg 300

318

cgctcgacgcc gcttctga

<210> 47
<211> 450
<212> DNA
<213> Rhodococcus rhodnii

<220>
<221> misc_feature
<223> 4381bp to 4830bp pRET1000

<400> 47
atggccgctg acgctgcatc tgacgaccgg cggaccgagg tccgcgccgc tgcttcgcgg 60
gccgctgacg cggccccggc gaagcgcacc cgcaccgtgg cggcgcggct gaccgatggg 120
gaggaggccg cgtggatcga cgccgcgctg gccgatggcc accggcagct cggggcgtgg 180
gtgcgtgagc gggcgggtggc cggctatctc gggaagggtcc gccgaagac cggcagtgga 240
atgtcggcgg aggcggccgc ggaggtcgcc gcgatgcggc agcagatgac gaaggtgggg 300
aacaacctga accagatcgc gagggcgatc aacgccgggc aggtgccgtc gcagatggcc 360
gagtccttgc agaaggggtg gctggagagg tgggggcagg agttggggcg gatggcggat 420
cggctcgacg cgctcgacga ccagggtga 450

<210> 48
<211> 210
<212> DNA
<213> Rhodococcus rhodnii

<220>
<221> misc_feature
<223> 4621bp to 4830bp pRET1000

<400> 48
atgtcggcgg aggcggccgc ggaggtcgcc gcgatgcggc agcagatgac gaaggtgggg 60
aacaacctga accagatcgc gagggcgatc aacgccgggc aggtgccgtc gcagatggcc 120
gagtccttgc agaaggggtg gctggagagg tgggggcagg agttggggcg gatggcggat 180

cggctcgacg cgctcgacga ccagggctga

210

<210> 49
<211> 177
<212> DNA
<213> Rhodococcus rhodnii

<220>
<221> misc_feature
<223> 4654bp to 4830bp pRET1000

<400> 49
atgcggcagc agatgacgaa ggtggggaac aacctgaacc agatcgcgag ggcgatcaac 60
gccgggcagg tgccgtcgca gatggccgag tccctgcaga aggggtggct ggagaggtgg 120
gggcaggagt tggggcggat ggcggatcgg ctgcacgcgc tcgacgacca gggctga 177

<210> 50
<211> 165
<212> DNA
<213> Rhodococcus rhodnii

<220>
<221> misc_feature
<223> 4666bp to 4830bp pRET1000

<400> 50
atgacgaagg tggggaacaa cctgaaccag atcgcgaggg cgatcaacgc cgggcaggtg 60
ccgtcgcaga tggccgagtc cctgcagaag ggggtggctgg agaggtgggg gcaggagttg 120
gggcgggatgg cggatcggct cgacgcgctc gacgaccagg gctga 165

<210> 51
<211> 453
<212> DNA
<213> Rhodococcus rhodnii

<220>
<221> misc_feature
<223> 5161bp to 4709bp pRET1000

<400> 51
atgactctcg aagcccatcc gtcggcgac cgtctgcgcg atgtccgcga actcggatc 60
ggtcagccgc cgatccccgg gcgcgcaccg cagcgagcaa tgccacaccg gcttaccac 120
ccgcgcgttc gtcgcggcgg cccgctcgaa gtcccgcccc caccgggtcg gggttttggc 180
ggtgacctgc accgatcccg cgatcaccgt cccgccggca atcagccggc ccgcctcgg 240
gcggtagctg tgcggggtgg ccttccccgg cccgtgcaga tacgccgcca accccttcgg 300
gtcgtgccc gtgctgatct tcgcgatcac gtcagccctg gtcgtcgagc gcgtcgagcc 360
gatccgcat ccgccccaac tcctgcccc acctctccag ccaccccttc tgcagggact 420
cgcccatctg cgacggcacc tgcccggcgt tga 453

<210> 52
<211> 354
<212> DNA
<213> Rhodococcus rhodnii

<220>
<221> misc_feature
<223> 5062bp to 4709bp pRET1000

<400> 52
atgccacacc ggcttaccca cccgcgcgtt cgtcgcggcg gcccgtcga agtcccgccc 60
ccaccgggtc ggggttttgg cggtgacctg caccgatccc gcgatcaccg tcccgccggc 120
aatcagccgg cccgcctcgg tgcggtagct gtgcggggtg gccttccccg gcccgtgcag 180
atacgccgcc aacccttcg ggtcgtgcc cgtgctgac ttcgcgatca cgtcagccct 240
ggtcgtcgag cgctcgagc cgatccgcca tccgccccaa ctctgcccc cacctctcca 300
gccacccctt ctgcaggac tcggccatct gcgacggcac ctgcccggcg ttga 354

<210> 53
<211> 288
<212> DNA
<213> Rhodococcus rhodnii

<220>
<221> misc_feature
<223> 2331bp to 2618bp pRET1000

<400> 53
atgatgcgct ggatcgtgcg cgtggaggcc cccatcttct cggccagctc gcgagctgtc 60
tgcttgccgc ggatcggtcg ttcagcgcgc acggtctgcc tcccacaatg cgttccggtc 120
gaccttcgtc gctcgtttcc ggtttgcctc gcgcttcttc tcaactcatct tgcgaccgcg 180
tgcggcttgt atggcgatga atgtggcctc gtagacagca gggccgctcg cccacatccg 240
ggactttgta gtgatccagc gggtaatgga ggccgcgacg gcgcgtag 288

<210> 54
<211> 285
<212> DNA
<213> Rhodococcus rhodnii

<220>
<221> misc_feature
<223> 2334bp to 2618bp pRET1000

<400> 54
atgcgctgga tcgtgcgct ggaggccccc atcttctcgg ccagctcgcg agctgtctgc 60
ttgcggcgga tcggtcgttc agcgcccacg gtctgcctcc cacaatgcgt tccggtcgac 120
cttcgtcgct cgtttccggt ttgcctcgcg cttcttctca ctcatcttgc gaccgcgtgc 180
ggcttgtatg gcgatgaatg tggcctcgta gacagcaggg ccgtcggccc acatccggga 240
ctttgtagtg atccagcggg taatggaggc cgcgacggcg cgtag 285

<210> 55
<211> 336
<212> DNA
<213> Rhodococcus rhodnii

<220>
<221> misc_feature
<223> 2907bp to 3242bp pRET1000

<400> 55
atgggtgtcc cagtcaccgt gagtccgggt cttggtcac aggccgaat agcccttgc 60
cccctggacg gcgcgccgga ggccttcggt gacggcggcc gcataggcga gcggcttacg 120

acgggcggtac tcggtgcggg tgaacggctc tgccagcgcc cacacagcgt gtgcgtgccc 180
gttacggggg ttctccacga tcgcgttcgg cagaggatga ttcccggccg ccgacagcgc 240
ccgcagcgcg gcgtccgggt ggtcaacgtc cacgacgagc aggttgctca atgcctgcgg 300
gttcgactcg atgtagcggc gatccagtgc gtctga 336

<210> 56
<211> 513
<212> DNA
<213> Rhodococcus rhodnii

<220>
<221> misc_feature
<223> 1650bp to 2162bp pRET1000

<400> 56
atgcggattg aactagttca tttggggaac gatgacctga tgaccgggga tcgtgaccta 60
cccatgctga ccatcgccga ggcggtggac gcgacgcaga ccagtgagag cacgatcaag 120
cgccgcctgc ggtcgggcgc gttcccgaac gcggtccgca ctgccgacgg gaagtggatg 180
attcccctcg gtgacctatc agcggcaggg ctgagaccag ggaaaatggc gaaacctgac 240
ccggtgaccc cttaaataga ccgggtccgt gacctggcag ctgagaacgc cgagctccgt 300
cagcgcctgg ccgtggccga agccctggcc agcgaacgca atcggatcat cgacgtgcag 360
caacagatgc tccggatgct cgaagcccgg ccggtgtcgg ccctggagcc cgcggcggtt 420
ccagtggcgg gtccgccgc gcccggtccg gccgccgatg gtcgggcagc tacgggcgcc 480
ctggcccga tacgtcgacg gcttctcggc tag 513

<210> 57
<211> 474
<212> DNA
<213> Rhodococcus rhodnii

<220>
<221> misc_feature
<223> 1689bp to 2162bp pRET1000

<400> 57
atgaccgggg atcgtgacct acccatgctg accatcgccg aggcggtgga cgcgacgcag 60
accagtgaga gcacgatcaa gcgccgcctg cggtcgggcg cggtcccgaa cgcggtccgc 120
actgccgacg ggaagtggat gattcccctc ggtgacctat cagcggcagg gctgagacca 180
gggaaaaatgg cgaaacctga cccggtgacc ccttcaaata accgggtccg tgacctggca 240
gctgagaacg ccgagctccg tcagcgcctg gccgtggccg aagccctggc cagcgaacgc 300
aatcggatca tcgacgtgca gcaacagatg ctccggatgc tcgaagcccg gccggtgtcg 360
gccctggagc ccgcggcggg tccagtggcg ggtccgccgc cggccgtccc ggccgccgat 420
ggtcgggcag ctacgggcgc cctggcccgg atacgtcgac ggcttctcgg ctag 474

<210> 58
<211> 450
<212> DNA
<213> Rhodococcus rhodnii

<220>
<221> misc_feature
<223> 1713bp to 2162bp pRET1000

<400> 58
atgctgacca tcgccgaggc ggtggacgcg acgcagacca gtgagagcac gatcaagcgc 60
cgcctgcggg cgggcgcgtt cccgaacgcg gtccgcactg ccgacgggaa gtggatgatt 120
cccctcgggt acctatcagc ggcagggctg agaccaggga aaatggcgaa acctgaccgc 180
gtgaccctt caaatgaccg ggtccgtgac ctggcagctg agaacgccga gctccgtcag 240
cgcctggccg tggccgaagc cctggccagc gaacgcaatc ggatcatcga cgtgcagcaa 300
cagatgctcc ggatgctcga agcccggccg gtgtcggccc tggagcccgc ggcggttcca 360
gtggcgggtc cgccgccgcc cgtcccggcc gccgatggtc gggcagctac gggcgccctg 420
gcccggatac gtcgacggct tctcggctag 450

<210> 59
<211> 336
<212> DNA
<213> Rhodococcus rhodnii

<220>
<221> misc_feature
<223> 1827bp to 2162bp pRET1000

<400> 59
atgattcccc tcggtgacct atcagcggca gggctgagac cagggaataat ggcgaaacct 60
gacccggtga ccccttcaaa tgaccgggtc cgtgacctgg cagctgagaa cgccgagctc 120
cgtcagcgcc tggccgtggc cgaagccctg gccagcgaac gcaatcggat catcgacgtg 180
cagcaacaga tgctccggat gctcgaagcc cggccggtgt cggccctgga gcccgcggcg 240
gttccagtgg cgggtccgcc gccgcccgtc ccggccgccg atggtcgggc agctacgggc 300
gccctggccc ggatacgtcg acggcttctc ggctag 336

<210> 60
<211> 288
<212> DNA
<213> Rhodococcus rhodnii

<220>
<221> misc_feature
<223> 1875bp to 2162bp pRET1000

<400> 60
atggcgaaac ctgacccggt gaccccttca aatgaccggg tccgtgacct ggcagctgag 60
aacgccgagc tccgtcagcg cctggccgtg gccgaagccc tggccagcga acgcaatcgg 120
atcatcgacg tgcagcaaca gatgctccgg atgctcgaag cccggccggt gtcggccctg 180
gagcccgcgg cggttccagt ggccgggtccg ccgccgcccg tcccggccgc cgatggtcgg 240
gcagctacgg gcgccctggc ccggatacgt cgacggcttc tcggctag 288

<210> 61
<211> 264
<212> DNA
<213> Rhodococcus rhodnii

<220>
<221> misc_feature
<223> 1906bp to 2169bp pRET1000

<400> 61
atgaccgggt ccgtgacctg gcagctgaga acgccgagct ccgtcagcgc ctggccgtgg 60
ccgaagccct ggccagcgaa cgcaatcgga tcatcgacgt gcagcaacag atgctccgga 120
tgctcgaagc ccggccggtg tcggccctgg agcccgcggc ggttccagtg gcgggtccgc 180
cgccgcccgt cccggccgcc gatggtcggg cagctacggg cgccctggcc cggatacgtc 240
gacggcttct cggctaggag ctga 264

<210> 62
<211> 258
<212> DNA
<213> Rhodococcus rhodnii

<220>
<221> misc_feature
<223> 810bp to 553bp pRET1000

<400> 62
atgctatggg aggtatgcac ctttcgcgcg ttatgtacgc atcctgggca ccctgggcac 60
gaccgacctt ctagcgatcg atggtgttct tggacatgct tcgccaggcc tgcgtctgtt 120
ccctacgctc cacgaaagcc ttctcgctct ctgctcacag tccattccg gattctcgac 180
ctcggtcgcg gccgggtggc tgatacccg gggccgactg cggcatgggt ggtccctggc 240
ggcgggccgg gggtttga 258

<210> 63
<211> 540
<212> DNA
<213> Rhodococcus rhodnii

<220>
<221> misc_feature
<223> 117bp to 656bp pRET1000

<400> 63
atgggaggcc acccgacacc gctacgggac atgctcgccg cccaggagca gcgccggaag 60
ccgtggactc cggagcagaa acgccagtac gcgaccgcaa aagcccaagc agaacgcgcc 120

gcgaaggcca aggacgccgc gaaatggacc gaggtcgccg gcggcggcta ccagcgggac 180
gtgcgcggga tgaacctgcg actgtgggtg gctgaggacg gcgcctggtc gatcacctcg 240
aagaaggacc ccgaccgcca gtacgccgca ggtcaggccg acaccgtcg gcaggcccaa 300
gccgcggcca cggccacagc gaaaacgcag gcccaggcga tgtggaagca ggtcccggcc 360
gacaagcgca ccgagtcagc caccagagcg gtccggcgcg tgatcgcgga tctcaccccc 420
accaaaccg ccgaggtcaa acccccggcc cgccgccagg gaccaaccat gccgcagtcg 480
gccccggggt atcagccacc cggccgcgac cgaggtcgag aatccggaat gggactgtga 540

<210> 64
<211> 510
<212> DNA
<213> Rhodococcus rhodnii

<220>
<221> misc_feature
<223> 147bp to 656bp pRET1000

<400> 64
atgctcgccg cccaggagca gcgccggaag ccgtggactc cggagcagaa acgccagtac 60
gcgaccgcaa aagcccaagc agaacgcgcc gcgaaggcca aggacgccgc gaaatggacc 120
gaggtcgccg gcggcggcta ccagcgggac gtgcgcggga tgaacctgcg actgtgggtg 180
gctgaggacg gcgcctggtc gatcacctcg aagaaggacc ccgaccgcca gtacgccgca 240
ggtcaggccg acaccgtcg gcaggcccaa gccgcggcca cggccacagc gaaaacgcag 300
gcccaggcga tgtggaagca ggtcccggcc gacaagcgca ccgagtcagc caccagagcg 360
gtccggcgcg tgatcgcgga tctcaccccc accaaaccg ccgaggtcaa acccccggcc 420
cgccgccagg gaccaaccat gccgcagtcg gccccggggt atcagccacc cggccgcgac 480
cgaggtcgag aatccggaat gggactgtga 510

<210> 65
<211> 351
<212> DNA
<213> Rhodococcus rhodnii

<220>
<221> misc_feature
<223> 306bp to 656bp pRET1000

<400> 65
atgaacctgc gactgtgggt ggctgaggac ggcgcttgt cgatcacctc gaagaaggac 60
cccgaccgcc agtacgccgc aggtcaggcc gacaccgtcg cgcaggccca agccgcggcc 120
acggccacag cgaaaacgca ggcccaggcg atgtggaagc aggtcccggc cgacaagcgc 180
accgagtcag ccaccagagc ggtccggcgc gtgatcgcg atctcacccc caccaaacc 240
gccgaggtca aacccccggc ccgccgccag ggaccaacca tgccgcagtc ggccccgggg 300
tatcagccac ccggccgcga ccgaggtcga gaatccggaa tgggactgtg a 351

<210> 66
<211> 201
<212> DNA
<213> Rhodococcus rhodnii

<220>
<221> misc_feature
<223> 456bp to 656bp pRET1000

<400> 66
atgtggaagc aggtcccggc cgacaagcgc accgagtcag ccaccagagc ggtccggcgc 60
gtgatcgcg atctcacccc caccaaacc gccgaggtca aacccccggc ccgccgccag 120
ggaccaacca tgccgcagtc ggccccgggg tatcagccac ccggccgcga ccgaggtcga 180
gaatccggaa tgggactgtg a 201

<210> 67
<211> 1326
<212> DNA
<213> Rhodococcus rhodnii

<220>
<221> misc_feature
<223> 5144bp to 656bp pRET1000

<400> 67
atgggcttcg agagtcaccc gtgggtggcg gtgcggcacg acgacgacca catccacctg 60
gctgtctccc gggtcgattt tcagggcgtg acctggaaga acagcaacga ccggtggaag 120
gtcgtcgagg tgatgcgcga ggtcgaacgc gcgcacggcc tgatcgaggt ggcgagcccg 180
gagcgggccc gtggccggca agccagcagc ggcgagcaac gccgcgcggt gcggaccggc 240
aaggtggcgc agcgggacgg tctgaggga attgtgaccg ccgcccgcga catcgccgca 300
ggccagggtg tgggggcgtt cgaagtggcg ctctacaga acccgattac ccgagtgcag 360
gtcggcgca acgtcgcga gacgggcccgt atgaatggct acagcttcaa cctgcccggc 420
tacgtcgacg ccgccgggga gccgatctgg ttgccggcct ccaaactcga ccggggtttg 480
tcctggtcac agctggaaaa gacgtgacc agaccccgcc cggaccgcct cgccggcgag 540
gagacggtgc cgcggaagcg gtcgagcgc gccgccgct gggagcagcg ccgccgcgag 600
gtcggcgcg agcagttcgc agctgcccgc tgggagcagg cccgcgcgaa tgttggtgag 660
acggccgggc ggatccgcgc cgaacagtcc gcggacacga agtggaaagca ggtgaacgag 720
gcgttgacca gccaagaccg ggccgaggag caggctgccg aggcagcgcg ggtcgcctcc 780
gctgtcatgg gaggccaccc gacaccgcta cgggacatgc tcgccgcca ggagcagcgc 840
cggaagccgt ggactccgga gcagaaacgc cagtacgcga ccgcaaaagc ccaagcagaa 900
cgcgccgcga aggccaagga cgccgcgaaa tggaccgagg tcgccggcgg cggctaccag 960
cgggacgtgc gcgggatgaa cctgcgactg tgggtggctg aggacggcgc ctggtcgatc 1020
acctgaaga aggacccga ccgccagtac gccgcaggtc aggccgacac cgtcgcgcag 1080
gccaagccg cggccacggc cacagcgaac acgcaggccc aggcgatgtg gaagcaggtc 1140
ccggccgaca agcgcaccga gtcagccacc agagcggctc ggcgcgtgat cgcggatctc 1200
acccccacca aaccgcccga ggtcaaacc ccggcccgc gccagggacc aacctgccc 1260
cagtcggccc cggggatatca gccacccggc cgcgaccgag gtcgagaatc cggaatggga 1320
ctgtga 1326

<210> 68

<211> 1194

<212> DNA
<213> Rhodococcus rhodnii

<220>
<221> misc_feature
<223> 5276bp to 656bp pRET1000

<400> 68
atgcgcgagg tcgaacgcgc gcacggcctg atcgaggtgg cgagcccgga gcgggcccgt 60
ggccggcaag ccagcagcgg cgagcaacgc cgcgcggtgc ggaccggcaa ggtggcgcag 120
cgggacggtc tgagggaat tgtgaccgcc gcccgcgaca tcgccgcagg ccagggtgtg 180
ggggcgttcg aagtggcgct cgtacagaac ccgattacc gagtgcaggt gcggcgcaac 240
gtcgcgaaga cgggccggat gaatggctac agcttcaacc tgcccggcta cgtcgacgcc 300
gccggggagc cgatctggtt gccggcctcc aaactcgacc ggggtttgtc ctggtcacag 360
ctggaaaaga cgctgaccag accccgcccg gaccgcctcg ccggcgagga gacggtgccg 420
cggaagcggc tcgagcgcgc cgccgcgtgg gagcagcgcc gccgcgaggt cggcggcgag 480
cagttcgcag ctgcccgtg ggagcaggcc cgcgcgaatg ttggtgagac ggccgggcgg 540
atccgcgccg aacagtccgc ggacacgaag tggaagcagg tgaacgaggc gttgaccagc 600
caagaccggg ccgaggagca ggctgccgag gcagcgcggg tcgcctccgc tgtcatggga 660
ggccaccga caccgctacg ggacatgctc gccgcccagg agcagcgccg gaagccgtgg 720
actccggagc agaaacgcca gtacgcgacc gcaaaagccc aagcagaacg cgccgcgaag 780
gccaaggacg ccgcgaaatg gaccgaggtc gccggcggcg gctaccagcg ggacgtgcgc 840
gggatgaacc tgcgactgtg ggtggctgag gacggcgcct ggtcgatcac ctcgaagaag 900
gaccccgacc gccagtacgc cgcaggtcag gccgacaccg tcgcgcaggc ccaagccgcg 960
gccacggcca cagcgaaaac gcaggcccag gcgatgtgga agcagggtccc ggccgacaag 1020
cgcaccgagt cagccaccag agcgggtccg cgcgtgatcg cggatctcac cccacacaaa 1080
cccgccgagg tcaaaccccc ggcccggcg cagggaccaa ccatgccgca gtcggccccg 1140
gggtatcagc caccggccg cgaccgaggt cgagaatccg gaatgggact gtga 1194

<210> 69
<211> 936
<212> DNA
<213> Rhodococcus rhodnii

<220>
<221> misc_feature
<223> 5534bp to 656bp pRET1000

<400> 69
atgaatggct acagcttcaa cctgcccggc tacgtcgacg ccgccgggga gccgatctgg 60
ttgccggcct ccaaactcga ccggggtttg tcctggtcac agctggaaaa gacgtgacc 120
agaccccgcc cggaccgcct cgccggcgag gagacgggtg cgcggaagcg gctcgagcgc 180
gccgccgcgt gggagcagcg ccgccgcgag gtcggcggcg agcagttcgc agctgcccgc 240
tgggagcagg cccgcgcgaa tgttggtag acggccgggc ggatccgcgc cgaacagtcc 300
gcggacacga agtggaaagca ggtgaacgag gcgttgacca gccaagaccg ggccgaggag 360
caggctgccg aggcagcgcg ggtcgctcc gctgtcatgg gaggccacc gacaccgcta 420
cgggacatgc tcgccgcca ggagcagcgc cggaagccgt ggactccgga gcagaaacgc 480
cagtacgcga ccgcaaaagc ccaagcagaa cgcgccgcga aggccaagga cgccgcgaaa 540
tggaccgagg tcgccggcgg cggctaccag cgggacgtgc gcgggatgaa cctgcgactg 600
tgggtggctg aggacggcgc ctggtcgatc acctcgaaga aggaccccga ccgccagtac 660
gccgcaggtc aggccgacac cgtcgcgcag gcccaagccg cggccacggc cacagcga 720
acgcaggccc aggcgatgtg gaagcaggtc ccggccgaca agcgcaccga gtcagccacc 780
agagcgggtcc ggcgcgtgat cgcggatctc acccccacca aaccgcccga ggtcaaacc 840
ccggcccgc gccagggacc aaccatgccg cagtcggccc cggggtatca gccaccggc 900
cgcgaccgag gtcgagaatc cggaatggga ctgtga 936

<210> 70
<211> 153
<212> DNA
<213> Rhodococcus rhodnii

<220>

<221> misc_feature
<223> 3355bp to 3507bp pRET1000

<400> 70
aacacactca cacacaagat cgattttattc cggtagcaca cgccagccaa gtcagatgtt 60
tcggtttctg gagcggtcct ccagaccttt gagatccgct ccagaaacgt ccacaaatta 120
ttggggtacg tcgaaccaag ctttatcagg tat 153

<210> 71
<211> 61
<212> DNA
<213> Rhodococcus rhodnii

<220>
<221> misc_feature
<223> 4290bp to 4350bp pRET1000

<400> 71
gagctatgcc cagggttgcg cagtgacttc gtcactgcgt aaccctgggc gtcgcctcc 60
c 61

<210> 72
<211> 325
<212> DNA
<213> Rhodococcus rhodnii

<220>
<221> misc_feature
<223> 3570bp to 3894bp pRET1000

<400> 72
ccgctcgaag tccttgagtc agtgacagga cactgctgg gctcccagcg cagaaggcaa 60
gtgaaggcag acgactgcgg gaggttaagtc gggtacggca tgaggctcctt cagaagcggc 120
gtcgacgcca ggcccacacg cacaatccgc ttcccacgag ggacaccacc ggtagcgccc 180
cctgcaaccg gcgcagtgtc acgaggcgcc ggtactgctc gtttgacagg aactgcaggg 240
tcggtgagct cgcgctgggc ggatcccacc agtagctccc cgtgccggta accgcttggg 300
gccaagcgaa gacacccacc gcggc 325

<210> 73
<211> 5444
<212> DNA
<213> Rhodococcus erythropolis

<220>
<221> misc_feature
<223> pRET1100 Full Length

<400> 73
cccggtatcc tcgagggggc agcggacgaa gacgccgcgt taggccgaaa acctgccgag 60
cgtctcgcac cccgcatttc ggcctacgtg cgtcagatag cagcgcagtc ggcaaaggct 120
ggaattcgcc ttctcctgct ctgcaacga gcggaggcct cgatcattgg cggcaatgcg 180
cgttcgaatt tcgggggtcaa gatgactctg aggggtggacg aaccggagtc ggtgagaatg 240
cttcatccga gcgcttcccc ggaagactgt gccctggtcg agaccttcaa gccttggtacc 300
tgccttttcg agaagccagg agaaggccgg cagattatgc gatgcgactt tgtcggcgag 360
tacgggagat atgcgcgagc catcgagtct tcggatctgc gttttctcgc caccctccag 420
caagaccagg cccaacgcga attcttcgct gaggagtctg gtgtgggtgga tccgtcatga 480
ctggaccaca ggagagaaaag cgcaaggcgg cgaagccgtc gcggggagcct cagttgaact 540
gctgtgaagc ggacgtgccg aaacgagcaa aacagcccc ggttccctct acgttcgacc 600
tgctcacggt gaaggagact gcggggctgc tgagagtcag tcaggcaact ctttaccggc 660
tgcttcggag tggggaagga cccacataca cacggatcgg tggacagata cgcgttcacc 720
gcgagtcgct gcgtcggttc atcgaaccgc gtggataacg tcacagagac agcgaaaacg 780
cctccccctgg gtcaatccgg ttaccgccgg actgggggag gcgcttcgac acctacatcc 840
gtcgccccctc gaaaggctca gatgcacttc cacgataacg cagaggtcgg acaagaggga 900
agaactgccg ttctctcgcc gttgcgcggc gtagccgcca agcgggacgt gtctgacgat 960
gcagcgaagc ggagtcggca ggcgcggcac gcgcctgggc ttgttacatc tgccacaact 1020
gtccgtgaat ctctgccagc tcctgaaacc gctggtcagg gccttgcgga atccgtgacc 1080
gctgatgatt tttggtctca ttcgttcccc cgcgctgacg atgtacgcgg cgcagctgct 1140

tccttccagt cgggtggctaa ctgggatggg cgtgagggtc cgaggccgcg tttcgttgtc 1200
gcgcctggcg ttgtccgctt ggaggtttgt gatctcgac gccgcgaacg aacggctgaa 1260
cgtgcgtatc tggctgctcg ggctcgggtg gatatggcgg ctgccaggca taactcgccg 1320
tacgacttcg acgtggacga tgaagagttg gcggaactgg cttctctgca aggcctcgag 1380
gacgacgaca ttgggggctg gtctgcggag agggaaatag tgggctggtc tgctcgttct 1440
cggtcacgga tgatcttgcg aatggcagaa ctgactggg ctcccatgat ggatttgccg 1500
ggcattcctg cgatggtgac cctcacctat ccgggggact ggcttacggt tgccccacc 1560
ggcgctgagg tcaaaaaaca tctccagacg ttcttcaaac ggttccaacg ggcctggggc 1620
attgcctgga tgggtgcgtg gaaaatggag ttccaaagcc gaggcgctcc gcattttcac 1680
ctgtacatgg tccctcctca tgggaaggca ggagactcgc ggaagctgcg gcatgatgct 1740
gagctcttga aatgggagat agcacgtgca gaggtgaag acccaggtcg caggccgtat 1800
ttccgggaag ctccaagcga tggattgaag tttcgtccgt ggctttctgc ggtgtgggcc 1860
gacgtcgtag atcatccgga cccaaggaa aaagaaaagc acgtcagtgc cggcactgga 1920
gtggactacg cggagggcac gcgaggtca gatccgaaaa ggcttgcggt gtacttctcc 1980
aagcatggaa cctttgccga caaggaatat cagcacgtag ttcttgcctca atggcagaaa 2040
acgggtgcgg gacctggcag gttctggggc taccgcggtt tgcgccggc cacggctgcc 2100
accgagattt cctgggatga gtacctgctt ttatctcgca cgttgcgacg attgtcagcg 2160
cgaacgaaga tctgggacct ggctttacga ggcggtagcg gcggccacag atggactaag 2220
gcgatgatgc gacgcacggt taccggcac cgcttgacc tcgtgaccgg tgagattctg 2280
ggcacgaaga cgcggaaggt tcgggcgcca gtgaagaggt ttgtccggac ttcgggatac 2340
ctgtgtgtca atgacgggcc cgcactggct cgaaccctca gccgtcttcg tacaagctgc 2400
ctgagctaga cgcgcggaac gcctttcgcc tttgtctttt gctggatggc gggttttggg 2460
cggcttctgg tgatgcgctg ctgcgtccg tggggagaga gacccaacga ctgacctatc 2520
tctaccagg tgcaattcat ctcccgct ctgtcggcta ggtaaacgag gtgctcccg 2580
gcgagctttt ccatgtggtc ggccaatgtc agctcggta ggacaacctg ctgttgttc 2640

gatagtgtg tccgcacggg tcgattgtct tctgttgcgg cataacggtt ttcgtcgttc 2700
gcggagagtg cggctaaatg aattgcatcc tcgattgagc ggagcatttc gacgcggaac 2760
ctggcgatga tgttgtctct gtcttcattc ataactgaag cgtattggga gtgttgcctt 2820
cccaccatgt gtgccaatgc aggtgtgaac tgagtcacag tttctcaata gactccaagt 2880
tttgtatcct tttactccca aaatggggca tgatgtgtgc gtgcctcggg tcaggggcga 2940
aagttcgaca cctcgaaaga aggcctcgac atggctttga aagctgctgg caacgtgatt 3000
cctgattcct ccgcgtacga gtaccgggcg gttcaggtcg agccgaagat ggtcagaaaa 3060
gacccggaag acccgaactc tgagcagttc cagaagcaga aggacggcac gccggtgtgg 3120
tcgatcgact gcattcgggt cgaccgggca tcaggcaaca aggcaatcgt gaccgtgacg 3180
gttccggacg tgatggaacc ggatgttgcg gggccggtgg agttctccga gatgattgcc 3240
ggtttctggg tttcgcgcag tggttcgggc atgtggtttt cggcaagcgc cgtcgttctt 3300
ctctgatcgc tgatcgtcgc ccctcgaaag gttcggaaat gtccaaagga aaaggcgttg 3360
cgctgggtgt ggggtgccctc gtgctcgtgt ttgtgctggt tgcggcaggt tggcaagcgg 3420
cgaacgtgtt cagtgatcgt tcacagtccg aagctgtgcc gctgagagtg ccggccgatc 3480
cgaagtggga aaacgggggtg ttctcggacg ttgccgggtg cctcgttctc tctccggaag 3540
agctggggcc gttcagcggg gggcagtaca tcgacatagt gaggccagtt gagccggaga 3600
ggttggagcg cgactgggtg aggtcggctg agtgcgtttc ggcgtcgatg aatgtctctg 3660
acctgttggg ttctgctctt ccagagtcca cccgtcccc cggcgatttc gttcgttcgt 3720
ggaaagtggc gagtgatgat tactgctatg aggggtgataa cccgcaaggc tgcacttctc 3780
gtatgccggt ttgggtctct gcaaaaaact ggtggtgcac agaaccgta ctcgatccgc 3840
tcgttcgtcg ctgtgaggtc tttcctgcaa ggcaaatcgt tgtgccggaa ggggtttcgt 3900
gatgtttctc cgagcgtttt ttcgttccaa gttggtcatg gtggctcttg tcctggtcgc 3960
tggcctgttt ctctacaacg cctgctcttc ttctgacgca aaggaagaga tcggcagcag 4020
tctgaatctc tctcctgtca ctgctcgttc gaatccgtat gagggcgtcc agcccacgat 4080
gagcgaaaaa agccctgttc ccgtccctgt cgtttccggc gacaggattt cgggggtggc 4140

atcgtgcggg acggattacg ccgggaagcc tgcggtgacg ctggaagctg tgttgatttc 4200
gtccgactcg gtgaactaca cactcgataa gaggcattgc ctggtgacga ccggcccgc 4260
gtggaaacaa gcgatccgta aagcgtcagg gtcagagatt cggcctgagg gcgggagctg 4320
gatacgggtg gtgcttgcca tgcctgacgg caatttcagg gcaggatggg caccaccgc 4380
ccaagtaacc gctggtgcgc tggatatitc ggcggtggtc tcgtgagcgg ggagaagcgg 4440
cacagcgagg ccggcccgt agaaatcatc tttttgatgc tggcagtcag ggcgggggac 4500
tacatcgtcg ccgtgactgc ggttctcgcg gtcgggttct tcgcggtcgc ggttgagggt 4560
ttctggttcc tggtcgtcgc agtcatcgct gcaccggcgt ggtggttct gcgcgactgg 4620
gaatcgaagc ggagggccgt acgggtcttt gaacgggcat ggaaggggac acctgaatcc 4680
cccgtattg ctctctccct tggcctgtcg aacgtggcgg ggtctctgcc gaggttgagg 4740
aagtttgaac ctggttcggg gatacgaca ctcgtgtttt ctttgccgc cggagtcact 4800
gccgagagct ttgagaaagt tcgccctgcg ctggcagacg cgatgggggg tcaccgctgc 4860
caagtagaga aggtggcccc cggacaggtc cgcgtcagag tgattgatga ggattcgatg 4920
aagacgccgc gtgatgcggg atgggcgaaa gatgttgtgc tggaagagga tacgttcgac 4980
ggtcttccgg gcgagacgcg atcctgggtc gagcaagagg ggccggcatc atgagaaaat 5040
cggcgggagt atctcggatt cctatccgtc tcgggcgtc tcagtacggg gaagacgttg 5100
gattcgatct cgctgcggac gccgctcaca tcgcatgca gggcaaaacc cgatccggca 5160
aaagtcaggc gacgtacaac gtgttagctc aggcagcagc gaacgcggcg gttcgagtcg 5220
taggggtccga cccgacacac gtactcctgg agcccttcaa acatcgaggg gtgtccgagc 5280
cttacgtggt ttcgggactg aatgcgcagg ccacggtgga catgctgggc tgggtcaagc 5340
gtgagtctga tcgtcgcac gaccagatgt ggcccctgcg taccgacaag ttttccgagt 5400
tcggggcttc gttcccgtg atactcgtcg tgctcgaaga gttt 5444

<210> 74

<211> 5813

<212> DNA

<213> Rhodococcus rhodnii

<220>
<221> misc_feature
<223> pRET1000 Full Length

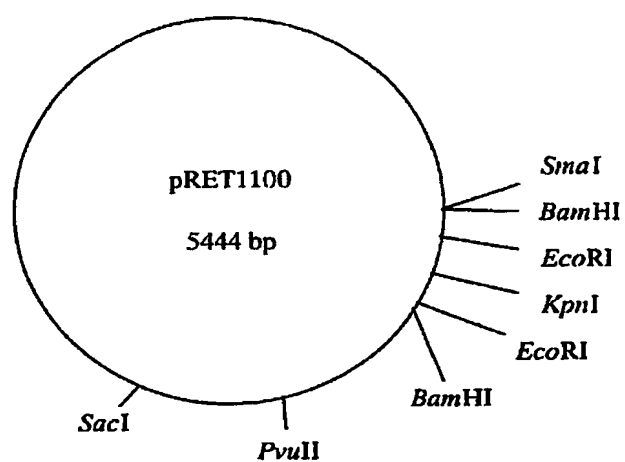
<400> 74
ggatccgcgc cgaacagtcc gcggacacga agtggaaagca ggtgaacgag gcgttgacca 60
gccaagaccg ggccgaggag caggctgccg aggcagcgcg ggtcgcctcc gctgtcatgg 120
gaggccaccc gacaccgcta cgggacatgc tcgccgcca ggagcagcgc cggaagccgt 180
ggactccgga gcagaaacgc cagtacgcga ccgcaaaagc ccaagcagaa cgcgccgcga 240
aggccaagga cgccgcgaaa tggaccgagg tcgccggcgg cggctaccag cgggacgtgc 300
gcgggatgaa cctgcgactg tgggtggctg aggacggcgc ctggtcgatc acctcgaaga 360
aggaccccga ccgccagtag gccgcaggtc aggccgacac cgtcgcgcag gcccaagccg 420
cggccacggc cacagcgaac acgcaggccc aggcgatgtg gaagcaggtc ccggccgaca 480
agcgcaccga gtcagccacc agagcgggtc ggcgcgatgat cgcggatctc acccccacca 540
aaccgcgccga ggtcaaacc ccggcccgc gccagggacc aaccatgccg cagtcggccc 600
cggggtatca gccaccggc cgcgaccgag gtcgagaatc cggaatggga ctgtgagcag 660
agagcgagaa ggctttcgtg gagcgtaggg aacagacgca ggcttggcga agcatgtcca 720
agaacaccat cgatcgctag aaggctcggtc gtgcccaggg tgcccaggat gcgtacataa 780
cgcgcgaaag gtgcatacct cccatagcat cggcgcgtat ggtagggaaa atgatcttca 840
aacgtattgc tgtggtcgtg ctgctgggtg gggctttggt agtgggaggc agccaggttg 900
ctggtgctac cacggtttca gctccacagc cgagtccttc agcagcgggtg gtgccgacgg 960
ttcttcacc agtcactttc accgccgctt ctgcgcactg cgaggcccag tacgcgtcgg 1020
attcccggcg atgccgtctg attccacttc cacagggccg agcgatctgc tgggcggcag 1080
ccgctgcccg ttacgcagcg tgccgcgccg gaaactaggt agaacgtgag catggacgag 1140
cttcccacct tcatcgccga cgacatcgtg atggccagaa cgttcgacag ccctaacggc 1200
caggtggtgc tcgaggtgaa cactccgcgg ccgttcgatg ctgcggcccc ggagggtgac 1260
tactgctgca ctttccggat cagcgggaac atggatgccc cttacgacgg attcgggtggc 1320

ggcgctcgacg cagtgccaggc gctgctactc gcattggcca tggcacacga ggaacttcgt 1380
caaacttcgc cagagttgac gtttctaggc gagacgaacc tcggtctacc ggtcttgaac 1440
atcaagccccg acaacgcgat cgaagccgtg gtctcatcc cgcctccctg atgtgacgca 1500
ctttcacccc tggcactcat gtaccgaagc tgggactgag aaagggtgc cgcgtcaccg 1560
cttcgcgttg acttgccact gaacgggggc gtgtcccgtt cagggcgggg tgtgacctgg 1620
gttcatgaca ccgctaacac gctgcggaaa tgcggattga actagtcat ttggggaacg 1680
atgacctgat gaccggggat cgtgacctac ccatgctgac catcgccgag gcggtggacg 1740
cgacgcagac cagtgcagc acgatcaagc gccgcctgcg gtcgggcgcg tccccgaacg 1800
cgggtccgcac tgccgacggg aagtggatga tccccctcg tgacctatca gcggcagggc 1860
tgagaccagg gaaaatggcg aaacctgacc cggtgacccc ttcaaatgac cgggtccgtg 1920
acctggcagc tgagaacgcc gagctccgtc agcgcctggc cgtggccgaa gccctggcca 1980
gcgaacgcaa tcggatcatc gacgtgcagc aacagatgct ccggtgctc gaagcccggc 2040
cgggtgcggc cctggagccc gcggcggttc cagtggcggg tccgccgccg cccgtcccgg 2100
ccgccgatgg tcgggcagct acgggcgccc tggcccggat acgtcgacgg cttctcggct 2160
aggagctgac cgcgtacttg cgtgcgtcgt gcaggagctt tcccaccgtt ccggtggaga 2220
ttcccatctc ctcggcgatc tcgcgttact tcaggccctg ctcgcgcagc tcgacggccc 2280
ggcgacggtt ctcggctgcc cgtgcgagga actgggtccc cggctcggcc atgatgcgt 2340
ggatcgtgcg cgtggaggcc cccatcttct cggccagctc gcgagctgtc tgcttgcggc 2400
ggatcggctg ttacagcggc acggtctgcc tcccacaatg cgttccggtc gaccttcgtc 2460
gctcgtttcc ggtttgcctc gcgtttcttc tcactcatct tgcgaccgcg tgcggcttgt 2520
atggcgatga atgtggcctc gtagacagca gggccgtcgg cccacatccg ggactttgta 2580
gtgatccagc gggtaatgga ggccgcgacg gcgcgtagct cgcttgctgg cagtggatcg 2640
ggcctgcctg tgaccgggtt cctgaacgtg gcgttgatct gtgcggcttc cgcatagac 2700
gcggccccga ggccggtcgg gtcgccccag tggaagcgga tttcgcggta ggcccaggtg 2760
cgtgcggttt cgaacagggc gcagtttcgg ccgaggccga tcgggttctc acggcgcgat 2820

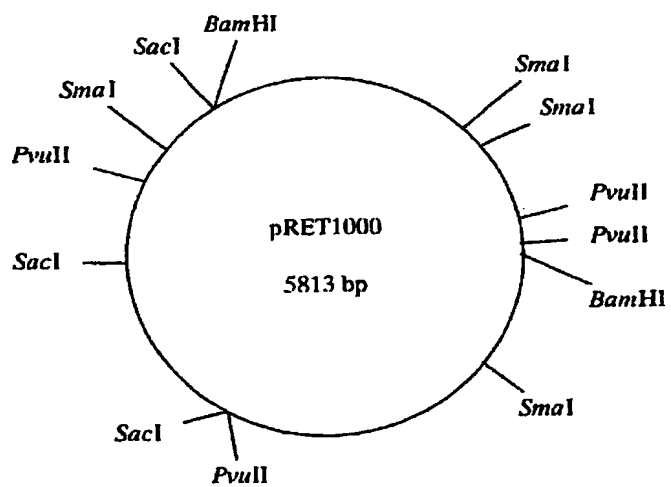
cgggtttgcc gccagcgcgt tggcggcatg tggatgccga gttccgcctc gagctcggcg 2880
agggatcgcc gctcgggtgtg cagccaatgg gtgtcccagt caccgtgagt cgggttcttg 2940
gtcatcaggc ccgaatagcc cttgtccccc tggacggcgc gccggaggcc ttcggtgacg 3000
gcggccgcat aggcgagcgg cttacgacgg gcgtactcgg tgcgggtgaa cggctctgcc 3060
agcgcacaca cagcgtgtgc gtgcccgtta cgggggttct ccacgatcgc gttcggcaga 3120
ggatgattcc cggccgccga cagcgcgccgc agcgcggcgt cggggtggtc aacgtccacg 3180
acgagcaggt tgctcaatgc ctgcgggttc gactcgatgt agcggcgatc cagtgcgtct 3240
gatcgccgca tccggtagac gccgtcgagg aaatcgtcgg ttgccagtgg ccacagcgg 3300
agccacagct gttcccaggc gccgcctgtg tgctcttcca ccgaaccat ggggaacaca 3360
ctcacacaca agatcgattt attccggtac gacacgccag ccaagtcaga tgtttcggtt 3420
tctggagcgg tcctccagac ctttgagatc cgctccagaa acgtccacaa attattgggg 3480
tacgtcgaa caagccttat caggtatccc ggggttccgg ggggtgaacac caccctccga 3540
ccggtccaga atccgtcgat ctcacctatc cgctcgaagt ccttgagtca gtgacaggac 3600
cactgctggg ctcccagcgc agaaggcaag tgaaggcaga cgactgcggg aggtaagtcg 3660
ggtacggcat gaggtccttc agaagcggcg tcgacgccag gcccacacgc acaatccgct 3720
tcccacgagg gacaccaccg gtagcgcccc ctgcaaccgg cgcagtgtca cgaggcgccg 3780
gtactgtcgc tttgacagga actgcagggt cggtgagctc gcgctgggcg gatcccacca 3840
gtagctcccc gtgccggtaa ccgcttgggg ccaagcgaag acaccaccg cggcagcgat 3900
ggcaatgcac gtggatggga acaccacca gaaccaggga aatcctggtg ccggcccag 3960
acgatcccgg cgcggtaaga ccacaccggc caccatcgcc acggcccccg acgcaacaag 4020
caataaccac cccatgagcg gacggtaaaa gcgccgacgc cgggtggccg ttaggtgcgc 4080
gccagcccgt gaccggaccg gcgaagcgtg ccgctgggcg gcccgccgtg gcgcccgtcc 4140
cgtgcccgtt ctgaccggtg gtctcggtcg ctcgttcctc gcgtcctcac ctgccggtca 4200
gcccgtgacc gtgccgtcca ccaccgggtg cctggtctgc gtctccctcg gctcgttcct 4260
cgcttatcct ggtgaccaga caccggagcg agctatgcc agggttgcgc agtgacttcg 4320

tcactgcgta accctgggcg ctcgcctccc attcgcttcg ctcacaggag ggggcccgtcg 4380
atggccgctg acgctgcatc tgacgaccgg cggaccgagg tccgcgccgc tgcttcgcgg 4440
gccgtgacg cggccccggc gaagcgcacc cgcaccgtgg cggtgccggt gaccgatggg 4500
gaggaggccg cgtggatcga cgccgcgctg gccgatggcc accggcagct cggggcgtgg 4560
gtgcgtgagc gggcgggtggc cggctatctc gggaaggtcc gcccgaagac cggcagtgga 4620
atgtcggcgg aggcggccgc ggaggtcgcc gcgatgcggc agcagatgac gaaggtgggg 4680
aacaacctga accagatcgc gagggcgatc aacgccgggc aggtgccgtc gcagatggcc 4740
gagtccttgc agaaggggtg gctggagagg tgggggcagg agttggggcg gatggcggat 4800
cggctcgacg cgctcgacga ccagggtga cgtgatcgcg aagatcagca cgggcagcga 4860
cccgaagggg ttggcggcgt atctgcacgg gccgggggaag gccacccgc acagctaccg 4920
caccgaggcg ggccggctga ttgccggcgg gacggtgatc gcgggatcgg tgcaggtcac 4980
cgccaaaaac ccgaccgggt gggggcggga cttcgagcgg gccgccgcga cgaacgcgcg 5040
ggtgggtaag ccggtgtggc attgctcgtc gcggtgcgcg cccggggatc ggcggctgac 5100
cgataccgag ttgcgggaca tcgcgcagac ggtgcccgag cggatgggct tcgagagtca 5160
tccgtgggtg gcggtgcggc acgacgacga ccacatccac ctggctgtct cccgggtcga 5220
ttttcagggc gtgacctgga agaacagcaa cgaccgggtg aaggctcgtc aggtgatgcg 5280
cgaggtcgaa cgcgcgcacg gcctgatcga ggtggcgagc ccggagcggg cccgtggccg 5340
gcaagccagc agcggcgagc aacgccgcgc ggtgcggacc ggcaaggtgg cgcagcggga 5400
cggctctgagg gaaattgtga ccgccgccc cgacatcgcc gcaggccagg gtgtgggggc 5460
gttcgaagtg gcgctcgtac agaaccgat taccgagtg caggtgcggc gcaacgtcgc 5520
gaagacgggc cggatgaatg gctacagctt caacctgccc ggctacgtcg acgccgccg 5580
ggagccgatc tggttgccgg cctccaaact cgaccggggt ttgtcctggt cacagctgga 5640
aaagacgctg accagacccc gcccggaccg cctcgccggc gaggagacgg tgccgcggaa 5700
gcggctcgag cgcgccgccg cgtgggagca gcgccgccgc gaggtcggcg gcgagcagtt 5760
cgcagctgcc cgctgggagc aggcccgccg gaatgttggg gagacggccg ggc 5813

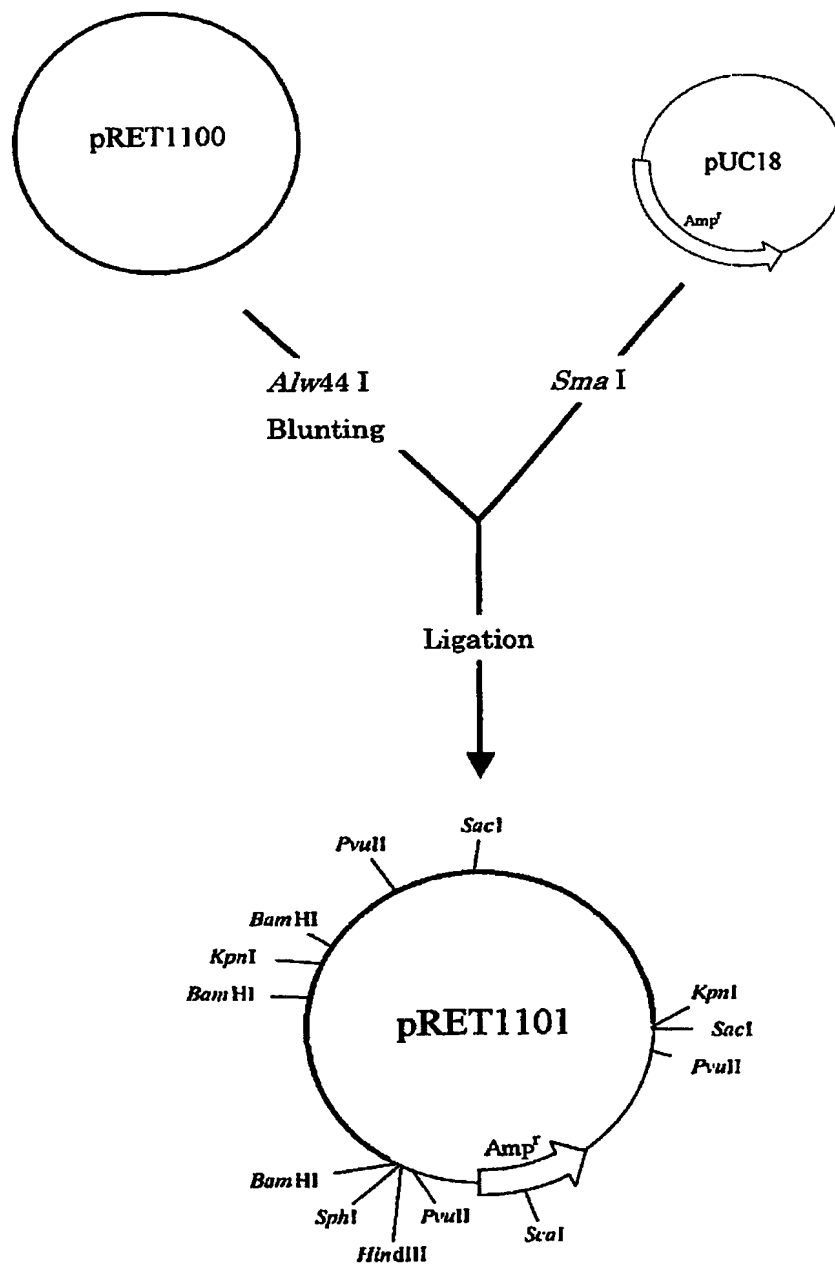
【書類名】 図面
【図 1】



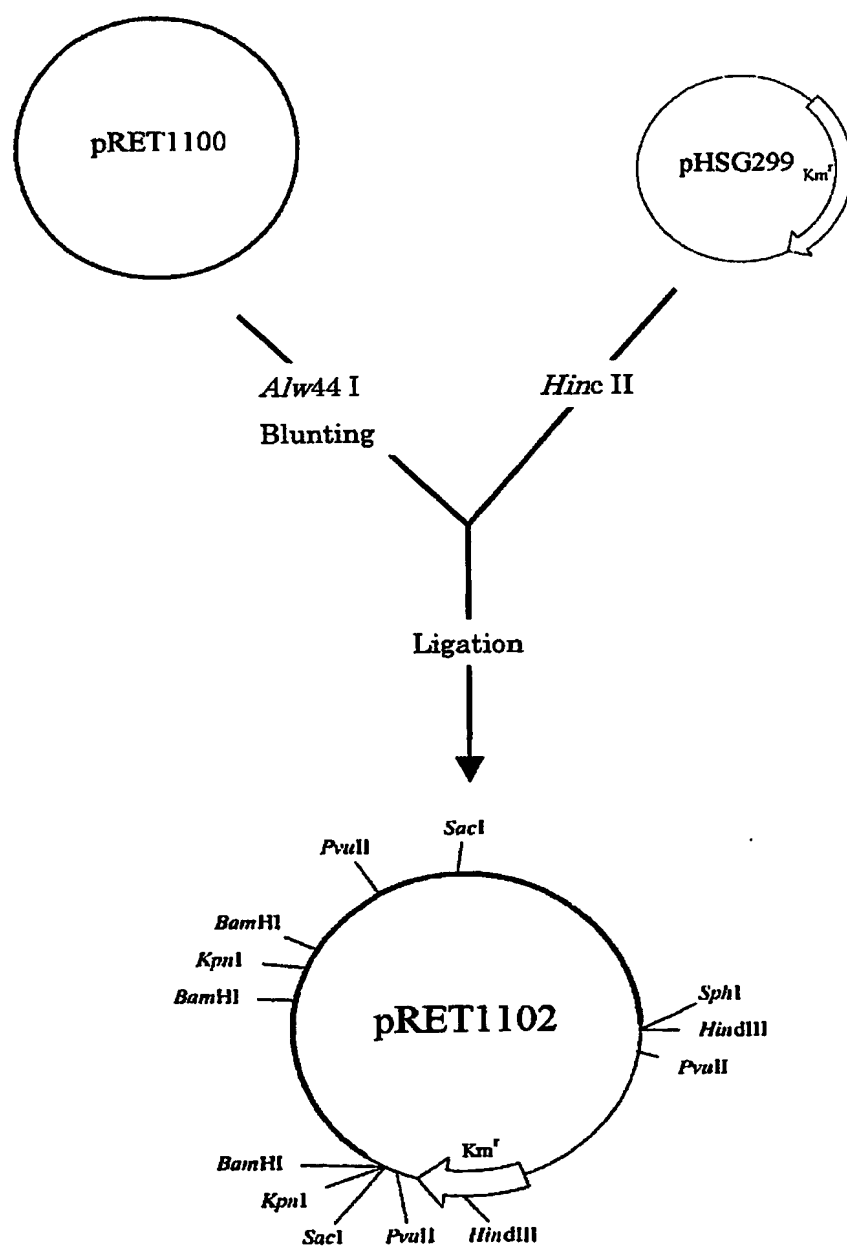
【図 2】



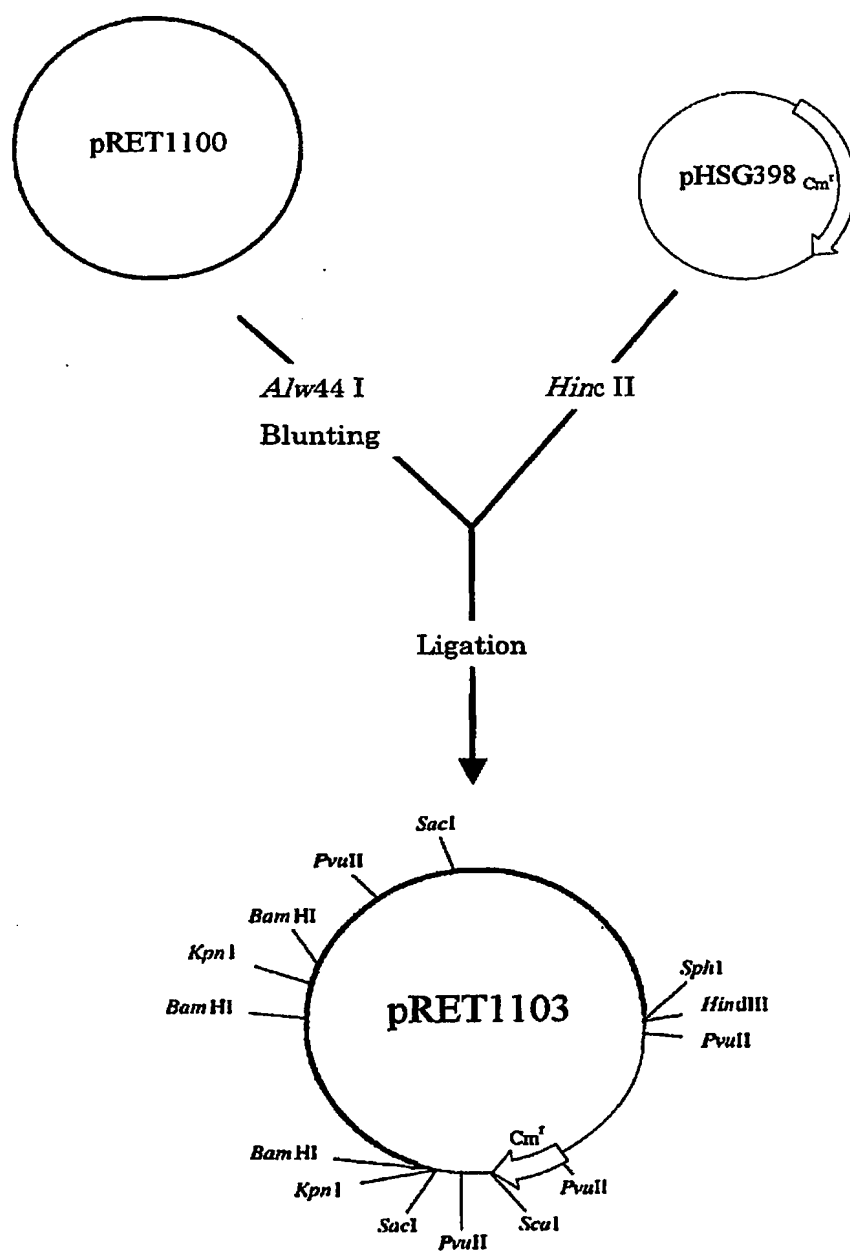
【図 3】



【図 4】



【図 5】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 Rhodococcus属菌由来のプラスミドを単離し、DNA複製に関する塩基配列情報を取得して、Rhodococcus属菌および大腸菌内で複製可能なシャトルベクターを作製する。

【解決手段】 Rhodococcus属菌由来のプラスミドであって、その大きさが約5.4kbpであり、配列番号73に記載の塩基配列を有するプラスミドまたはその一部であるDNA断片等、或いはRhodococcus属菌由来のプラスミドであって、その大きさが約5.8kbpであり、配列番号74に記載の塩基配列を有するプラスミドプラスミドまたはその一部であるDNA断片等から、Rhodococcus属菌内で複製可能なDNA領域を調製し、大腸菌由来のプラスミドまたはその一部から、大腸菌内で複製可能なDNA領域を調製し、さらに好ましくは、薬剤耐性遺伝子などを含むDNA領域を用意し、シャトルベクターを作製する。

【選択図】 図3

特願 2 0 0 3 - 3 7 3 4 7 6

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[3 9 0 0 1 0 2 0 5]

1. 変更年月日

2 0 0 1 年 1 0 月 4 日

[変更理由]

名称変更

住 所

富山県高岡市長慶寺 5 3 0 番地

氏 名

第一ファインケミカル株式会社